

**Titre:** Automatisation et optimisation de l'analyse de données de  
résonance magnétique pour les cerveaux de rongeur en  
développement  
**Title:**

**Auteur:** Luis-Konu De Almeida Gomes Akakpo  
**Author:**

**Date:** 2016

**Type:** Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

**Référence:** De Almeida Gomes Akakpo, L.-K. (2016). Automatisation et optimisation de  
l'analyse de données de résonance magnétique pour les cerveaux de rongeur en  
développement [Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de Montréal].  
PolyPublie. <https://publications.polymtl.ca/2442/>  
**Citation:**

 **Document en libre accès dans PolyPublie**  
Open Access document in PolyPublie

**URL de PolyPublie:** <https://publications.polymtl.ca/2442/>  
**PolyPublie URL:**

**Directeurs de recherche:** Philippe Pouliot, Frédéric Lesage, & Gregory Lodygensky  
**Advisors:**

**Programme:** Génie biomédical  
**Program:**

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

AUTOMATISATION ET OPTIMISATION DE L'ANALYSE DE DONNÉES DE  
RÉSONANCE MAGNÉTIQUE POUR LES CERVEAUX DE RONGEUR EN  
DÉVELOPPEMENT

LUIS-KONU DE ALMEIDA GOMES AKAKPO

INSTITUT DE GÉNIE BIOMÉDICAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION  
DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES  
(GÉNIE BIOMÉDICAL)

DÉCEMBRE 2016



UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé :

AUTOMATISATION ET OPTIMISATION DE L'ANALYSE DE DONNÉES DE  
RÉSONANCE MAGNÉTIQUE POUR LES CERVEAUX DE RONGEUR EN  
DÉVELOPPEMENT

présenté par : DE ALMEIDA GOMES AKAKPO Luis-Konu

en vue de l'obtention du diplôme de : Maîtrise ès sciences appliquées

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

M. DEHAES Mathieu, Ph. D., président

M. POULIOT Philippe, Ph. D., membre et directeur de recherche

M. LODYGENSKY Gregory, M. D., membre et codirecteur de recherche

M. LESAGE Frédéric, Ph. D., membre et codirecteur de recherche

M. NEAR Jamie, Ph. D., membre

## DÉDICACE

*À mon incroyable mère*

## REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Gregory Lodyginsky et Philippe Pouliot de m'avoir pris dans ce projet et de m'avoir donné l'opportunité de découvrir le monde de la recherche. J'aimerais également les remercier pour le soutien financier qu'ils m'ont apporté tout au long de ces deux années. J'aimerais en particulier remercier Gregory Lodyginsky pour s'être soucier en permanence de ma situation et pour m'avoir offert son soutien à plusieurs reprises.

J'aimerais également remercier Mathieu Dehaes et Jamie Near d'avoir accepté de faire partie du jury (et d'avoir développé FID-A, un incroyablement pratique outil d'analyse des données de spectroscopie).

Ma gratitude va aussi à Wyston Pierre et Irène Londono pour leurs longues journées passées à la salle IRM et pour avoir toujours été prêts à me prêter main forte. Je tiens également à remercier Chen Jin pour avoir fourni des données d'une qualité irréprochable qui m'ont permis de me plonger dans le monde de l'imagerie de diffusion avec du matériel à grand potentiel.

Je remercie évidemment ma mère et mes sœurs pour m'avoir soutenu dans ce projet et de toujours avoir été disponibles.

Un immense merci à Delphine, mon petit animal aux yeux clairs, pour avoir traversé l'Atlantique tant de fois et qui, malgré la distance, a su emplir de joie et de bons souvenirs ces deux années.

Je serai aussi éternellement reconnaissant à la famille Henri pour m'avoir accueilli chez eux et dont la gentillesse et compagnie m'ont permis de tenir le rythme intense de ces derniers mois. Un très très grand merci à Marc, Lucie, Catherine, Gabrielle, Éléa et la petite Mila (et Kalù et Poughkeepsie).

## RÉSUMÉ

Les lésions de la matière blanche parfois observées chez les enfants prématurés peuvent avoir des conséquences lourdes sur le développement cognitif, comportemental et social de l'enfant. Il est important de réagir tôt pour éviter des conséquences irrémédiables. Malheureusement, à l'heure actuelle, la capacité d'un traitement à protéger les habilités cognitives ou comportementales ne peut être évaluée qu'à un stade développemental avancé, et il est alors généralement trop tard pour un traitement alternatif. L'établissement de biomarqueurs qui corréleront avec l'issue neuro-développementale et qui permettent d'évaluer en phase aiguë l'effet du traitement serait très bénéfique.

À cet effet, l'imagerie par résonance magnétique (IRM) est un outil de choix. Son caractère non-invasif permet d'étudier sans risques additionnels cette population sensible. Le présent mémoire évalue la capacité des technologies de résonance magnétique à détecter les lésions diffuses de la matière blanche dans un modèle animal. Ce modèle animal reproduit les lésions observées chez l'humain prématuré en induisant une réaction inflammatoire par l'injection de lipopolysaccharides (LPS) directement dans le cerveau au troisième jour postnatal (P3).

L'objectif principal du travail présenté est le développement d'outils opérateur-indépendants et optimaux pour l'analyse des données de résonance magnétique du raton. En particulier, ces outils sont conçus pour l'analyse des données d'imagerie du tenseur de diffusion (DTI) et pour l'analyse de données de spectroscopie (MRS). Ces outils sont ensuite appliqués à la caractérisation du modèle animal via l'analyse de deux jeux de données. Le premier est constitué de données DTI acquises à P24 *ex vivo* sur deux groupes, un sham (témoin) et un ayant subi une injection de LPS. Le second comprend des données MRS et DTI acquises en phase aiguë de la réaction inflammatoire (P4) *in vivo* dans trois groupes : sham, LPS et un troisième ayant reçu l'injection de LPS et un traitement neuroprotecteur par l'injection de l'antagoniste recombinant de l'IL1- $\beta$  (IL1-Ra), une cytokine pro-inflammatoire.

Il existe différentes approches à l'analyse des données DTI : par région d'intérêt, par histogrammes, par tractographie et par comparaisons voxel-par-voxel. Principalement, dans ce mémoire, deux méthodes voxel-par-voxel ont été étudiées : "Voxel-Based Analysis" ou VBA et "Tract-Based Spatial Statistics" ou TBSS. VBA compare les populations en calculant une statistique pour chaque point de l'espace. TBSS, développé pour répondre à certaines limitations de VBA, compare les deux groupes en conduisant les tests sur un sous-ensemble des voxels de la

matière blanche, le squelette de matière blanche.

Ces deux méthodes reposent sur une étape préliminaire majeure : la normalisation spatiale. La normalisation permet de s'assurer, jusqu'à un certain degré, que pour l'ensemble de la population les voxels comparés correspondent à une même région anatomique. Pour ce projet, trois méthodes de normalisation spatiale utilisant chacune un algorithme de recalage différent ont été implémentées : *Symmetric Group-Wise Normalization* avec l'algorithme *Symmetric Normalization* (SyN, de la suite *Advanced Normalization Tools* ou ANTs), la normalisation spatiale non-biaisée du module *Diffusion Tensor Toolkit* (DTI-TK) et une normalisation spatiale sur base du sujet le plus représentatif de la population avec l'algorithme *FMRIB Non-linear Image Registration Tool* (FNIRT, de la suite *FMRIB Software Library* ou FSL).

L'analyse automatique des données de diffusion peut donc se faire via différentes combinaisons de normalisation spatiale (ANTs, DTI-TK, FSL) et d'analyse voxel-par-voxel (VBA, TBSS). Il est généralement difficile de déterminer la meilleure combinaison et il n'y a pas de principes établis pour guider ce choix. Ceci est étudié dans l'article « Near equivalence of three automated diffusion tensor analysis pipelines in a neonate rat model of periventricular leukomalacia » où chacune des normalisations spatiales implémentées est testée en combinaison avec VBA et TBSS. L'étude démontre que les résultats sont très cohérents entre les différentes approches mais met en évidence des limitations de VBA et TBSS. Les résultats suggèrent qu'appliquer la normalisation DTI-TK en combinaison avec TBSS permet une analyse plus robuste, du moins pour les rats et dans le cadre de ce modèle animal.

Des modules d'analyse par histogramme et de parcellisation automatique de la matière blanche sous-corticale ont également été implémentés et testés.

L'analyse des données de spectroscopie est plus directe, dans le sens où les paramètres de l'analyse sont moins influents sur le résultat. De ce fait, un pipeline unique et opérateur-indépendant a été implémenté, incorporant le prétraitement des données et la quantification des métabolites à l'aide du *Linear Combination Model* (LCModel).

Ces pipelines DTI/MRS ont été appliqués à l'étude du modèle animal et ont permis de démontrer la sensibilité des technologies de résonance magnétique à ce type de lésion. En effet, l'analyse des données de diffusion *ex vivo* a souligné une lésion persistante et diffuse de la matière blanche sous-corticale du côté ipsilatéral. En phase aiguë de l'inflammation, les données de diffusion *in vivo* indiquent une forte diminution de la diffusivité radiale et axiale. La spectroscopie

a également permis de mettre en évidence des changements métaboliques avec notamment une réduction de N-acétylaspartate, glutamate, phosphoryléthanolamine et une augmentation de lipides et de macromolécules. Le traitement à l'IL1-Ra a permis de modérer les changements observés en DTI et en MRS.

En conclusion, différents outils « état-de-l'art » relatifs à l'analyse de données DTI et MRS ont été développés et appliqués avec succès à l'étude d'un modèle animal des lésions de la matière blanche de l'enfant prématuré. Les résultats permettent de considérer la DTI et la MRS comme technologies prometteuses pour la caractérisation et le suivi de ce type de lésion, celles-ci étant sensibles à la lésion en phase aiguë de la réaction inflammatoire ainsi qu'à un stade développemental plus avancé. Cependant, afin de permettre une interprétation solide des changements observés, il est nécessaire de confronter les observations IRM à d'autres méthodes d'imagerie telles que l'immuno-histologie, la microscopie électronique ou encore l'optique par cohérence tomographique.

## ABSTRACT

White matter injuries observed in the preterm infant may have heavy consequences on the cognitive, behavioral and social development of the child and it is imperative to act early in order to avoid definitive repercussions. Unfortunately, for now, the efficacy of neuroprotective treatments can only be assessed at an advanced developmental stage when it is already too late to experiment with an alternative treatment. Finding biomarkers that correlate with the neurodevelopmental outcome and allow to assess the efficacy of the treatment at an early stage would be greatly beneficial.

Magnetic resonance imaging (MRI) is a prominent technology with potential for establishing quantitative biomarkers. Moreover, its non-invasive nature allows to study this sensitive population without additional risks. This thesis assesses the use of MRI technologies for the study of diffuse white matter injury in an animal model. This animal model reproduces the lesions observed in human preterms by inducing an inflammatory reaction in the neonate rat brain by an injection of lipopolysaccharides (LPS) at postnatal day 3 (P3).

The main goal of this project is to develop user-independent and optimal tools for the analysis of magnetic resonance data of the rat pup brain. Specifically, these tools are designed for the analysis of diffusion tensor imaging (DTI) and magnetic resonance spectroscopy (MRS) data. The secondary goal is to apply these tools to the study of the animal model of white matter injury. The data are made up of two different sets. The first one is constituted of DTI data only acquired *ex vivo* at P24 on two different groups: one sham and one that underwent an LPS injection. The second set of data comprises both DTI and MRS data. Data were acquired *in vivo* at the acute phase of injury (P4) on three different groups: sham, LPS and a third group that was injected with LPS and received a neuroprotective treatment by administration of the recombinant antagonist of IL1- $\beta$  (IL1-Ra), a pro-inflammatory cytokine.

There are several ways to conduct the analysis of DTI data: by region of interest, by histograms, by tractography or by conducting voxelwise comparisons. Primarily, in this thesis, two voxelwise methods were studied: “Voxel-Based Analysis” or VBA and “Tract-Based Spatial Statistics” or TBSS. VBA compares populations by computing a statistic at every voxel of the image. TBSS, which has been developed to alleviate some limitations of VBA, runs the statistical tests on a subset of voxels in the white matter, the white matter skeleton.

Both these methods strongly rely on a specific image processing step: the spatial normalization. The normalization ensures, to a certain extent, that the voxels correspond to a same anatomical region across the subjects. Here, three normalization approaches, each using a different registration algorithm, were implemented: *Symmetric Group-Wise Normalization* using the *Symmetric Normalization* (SyN) algorithm of the *Advanced Normalization Tools* (ANTs) toolbox; the unbiased normalization of the *Diffusion Tensor Toolkit* (DTI-TK); and a normalization based on the population most representative subject using *FMRIB Non-linear Image Registration Tool* (FNIRT) algorithm of the *FMRIB Software Library* (FSL).

Automatic diffusion data analysis can therefore be performed using combinations of a certain spatial normalization (ANTs, DTI-TK, FSL) and a voxelwise analysis (VBA, TBSS). Determining the best combination is not straight-forward and there are no principled ways to choose one combination over another. This was studied in the submitted paper “Near equivalence of three automated diffusion tensor analysis pipelines in a neonate rat model of periventricular leukomalacia” in which each of the implemented normalization methods were tested in combination with VBA and TBSS. Results demonstrate great coherence among the tested pipelines but also underlines both VBA and TBSS limitations. The study also suggests that, for the rat pup data of this animal model, combining DTI-TK normalization with TBSS might yield a more robust analysis.

Other analysis modules implemented for the study of DTI data include analysis by histogram and by automatic parcelling of sub-cortical white matter.

Magnetic spectroscopy data analysis does not depend as strongly to the processing pipeline as diffusion data. Therefore, a unique and user-independent pipeline was implemented. This pipeline incorporates data preprocessing operations and automatic metabolites quantification using the *Linear Combination Model* (LCModel).

These pipelines were applied to the study of the animal model and the results demonstrated that magnetic resonance technologies are sensitive to these injuries. The *ex vivo* diffusion data exhibited a persistent and diffuse injury of the sub-cortical white matter on the ipsilateral side. At the acute phase, the *in vivo* diffusion data showed a strong decrease of axial and radial diffusivities. The spectroscopy data also underlined metabolic perturbations with essentially a decrease of N-acetylaspartate, glutamate, phosphorylethanolamine and an increase of lipids and macromolecules.



The IL1-Ra neuroprotective treatment seemed effective and moderated the amplitude of these changes in both DTI and MRS.

In conclusion, various state-of-the-art analysis tools for DTI and MRS data were developed and successfully applied to the study of an animal model of diffuse white matter injury of the preterm baby. Results indicate that DTI and MRS are potential tools for the characterisation and monitoring of this pathology, these being sensitive to the injury in the acute and chronic stages. However, in order to further strengthen the interpretation of these results, it is necessary that these be supported by other imaging technologies such as immuno-histology, electronic microscopy or optical coherence tomography.

## TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE .....	III
REMERCIEMENTS.....	IV
RÉSUMÉ .....	V
ABSTRACT.....	VIII
TABLE DES MATIÈRES .....	XI
LISTE DES TABLEAUX.....	XV
LISTE DES FIGURES .....	XVII
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS .....	XXIV
LISTE DES ANNEXES .....	XXVI
CHAPITRE 1 INTRODUCTION .....	1
CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE.....	3
2.1 Introduction à l'imagerie par résonance magnétique.....	3
2.1.1 La résonance magnétique nucléaire .....	3
2.1.2 L'imagerie par résonance magnétique .....	6
2.2 L'imagerie du tenseur de diffusion.....	9
2.2.1 Pondération par la diffusion.....	9
2.2.2 Le tenseur de diffusion et l'imagerie du tenseur de diffusion (DTI) .....	11
2.2.3 Lien à la biologie .....	16
2.3 Traitement post-acquisition des données de diffusion.....	19
2.3.1 Traitement des images pondérées par la diffusion.....	19
2.3.2 Traitement des données DTI.....	19
2.4 Analyse automatique des données de DTI.....	20
2.4.1 Le recalage et la normalisation spatiale .....	21

2.4.2	Les analyses voxel-par-voxel.....	37
2.4.3	L'analyse statistique .....	51
2.4.4	Autres techniques d'analyse des données DTI .....	54
2.5	La spectroscopie par résonance magnétique.....	57
2.5.1	Principes de base.....	57
2.5.2	Acquisition.....	57
2.5.3	Traitement des données.....	59
2.5.4	Quantification .....	61
CHAPITRE 3	ORGANISATION DU MÉMOIRE.....	66
3.1	Matériel.....	66
3.2	Démarche et organisation du mémoire .....	69
3.2.1	Objectif O1.1 : "L'optimisation et l'automatisation de l'analyse de données DTI <i>ex vivo</i> et <i>in vivo</i> ".....	69
3.2.2	Objectif O1.2 : "L'optimisation et l'automatisation de l'analyse de données MRS".....	70
3.2.3	Objectif O2 : "Analyse et interprétation des données de diffusion et de spectroscopie chez le raton suite à l'exposition à une lésion inflammatoire par injection de LPS" .....	71
CHAPITRE 4	LES MODULES D'ANALYSE DES DONNÉES DE RÉSONANCE MAGNÉTIQUE.....	72
4.1	Analyse des données de diffusion.....	72
4.1.1	Prétraitement .....	72
4.1.2	Normalisation spatiale .....	74
4.1.3	Segmentation à partir d'un atlas .....	77
4.1.4	Analyses voxel-par-voxel et tests statistiques.....	77
4.1.5	Analyse par histogramme .....	78

4.1.6	Analyse par régions d'intérêt .....	78
4.1.7	Parcellisation de la matière blanche sous-corticale .....	78
4.2	Analyse des données de spectroscopie .....	82
CHAPITRE 5 ARTICLE 1 : NEAR EQUIVALENCE OF THREE AUTOMATED DIFFUSION TENSOR ANALYSIS PIPELINES IN A NEONATE RAT MODEL OF PERIVENTRICULAR LEUKOMALACIA .....		84
5.1	Abstract .....	85
5.2	Introduction .....	85
5.3	Methods .....	87
5.3.1	Animal preparation .....	87
5.3.2	MRI acquisition .....	88
5.3.3	DTI processing .....	88
5.3.4	Normalization using study-specific templates .....	89
5.3.5	Automated Whole-brain Voxelwise Analyses .....	91
5.3.6	Assessing normalization performance .....	92
5.4	Results .....	93
5.4.1	Comparison of normalization strategies .....	93
5.4.2	VBA .....	95
5.4.3	TBSS .....	96
5.5	Discussion .....	98
5.5.1	Template construction .....	98
5.5.2	Registration algorithm .....	99
5.5.3	Voxel-based DTI analyses .....	99
5.6	Conclusion .....	100
5.7	Acknowledgments .....	100

5.8	References.....	101
5.9	Supplementary Material.....	106
CHAPITRE 6 MÉTHODOLOGIES ET RÉSULTATS SUPPLÉMENTAIRES POUR LES DONNÉES <i>EX VIVO</i> À P24.....		109
6.1	Segmentation et mesure du volume de l'hippocampe .....	109
6.2	Segmentation et mesure du volume partiel des ventricules latéraux .....	111
6.3	Analyse par histogramme .....	113
CHAPITRE 7 ANALYSE DES DONNÉES <i>IN VIVO</i> À P4 .....		114
7.1	Données de l'imagerie du tenseur de diffusion.....	114
7.1.1	Analyse par ROI .....	114
7.1.2	Analyse par ROI issues de la parcellisation de la matière blanche sous- corticale.....	116
7.2	Données de spectroscopie .....	119
7.2.1	Méthodes.....	119
7.2.2	Résultats.....	121
CHAPITRE 8 DISCUSSION GÉNÉRALE.....		127
8.1	Les analyses automatiques des données de diffusion .....	127
8.2	Interprétation des résultats dans le cadre des lésions inflammatoires de la matière blanche.....	130
CHAPITRE 9 CONCLUSION.....		134
BIBLIOGRAPHIE.....		135
ANNEXES.....		154

# LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1. : Algorithmes de recalage non-linéaire en neuro-imagerie publiquement disponibles.

\*Algorithmes spécifiquement développés pour le recalage de données DTI ; <sup>a</sup>Algorithmes évalués dans Klein et al. (2009) ; <sup>b</sup>Algorithmes évalués dans Wang et al. (2011). <sup>c</sup>Les algorithmes "Demons" sont des variantes de l'approche utilisant des contraintes de flux optique proposée dans Thirion, 1996. FSL : FMRIB Software Library ; ANTs : Advanced Normalization Tools. .... 31

Tableau 2.2. : Atlas du cerveau du rat avec contrastes DTI publiquement disponibles.

<sup>1</sup>Segmentation du cerveau dans son entièreté ; <sup>2</sup>Segmentation des différentes parties de l'hippocampe ; ID : Diffusion isotropique ; DWI : Images pondérées par la diffusion. .... 35

Tableau 2.3. : Application de VBA chez le rongeur et les différents paramètres de l'analyse. EAE = experimental autoimmune encephalomyelitis; HD = Huntington's disease; AD = Alzheimer's disease; SyGN = Symmetric Group-wise Normalization. .... 41

Tableau 2.4. : Résumé des critiques de TBSS. La première rangée résume les commentaires de la publication originale (Smith et al., 2006) pour chaque étape de TBSS. .... 47

Tableau 2.5. : Application de TBSS chez le rongeur et les différents paramètres de l'analyse. TBI : Traumatic Brain injury; MB : matière blanche; TFCE : Threshold-free cluster enhancement; CBT : cluster-based thresholding; SPR : Sujet le plus représentatif; FDR : False Discovery Rate; FWER : Family-Wise Error Rate; CMTK : Computational Morphometry Toolkit (nitrc.org/projects/cmtk). .... 49

Tableau 2.6. : Les différentes méthodes d'analyse des données DTI et leurs caractéristiques.

X=Faux ; V=Vrai. .... 55

Tableau 2.7. : Les paramètres d'une analyse LCModel..... 64

Table 5.1. : Comparison of the three normalization pipelines implemented and their main characteristics..... 89

Table 5.2. : TBSS and VBA p-value results. Minimum p-value found in the statistical image for each test contrast, data type and normalization pipeline. If the minimum p-value is smaller

than 0.05, it means there are regions with significant differences, otherwise there are none.

\* $p < 0.05$ ; (\*)  $0.05 < p < 0.1$ . L = LPS ; S = SHAM. .... 95

Tableau 6.1. : Moyennes et variances du volume des hippocampes et résultats des tests de Mann-Whitney, Barlett et Wilcoxon. \* :  $p < 0.05$  ; \*\* :  $p < 0.01$ ; \*\*\* :  $p < 0.001$ ; ..... 111

Tableau 6.2. : Moyennes et variances du volume partiel des ventricules latéraux et résultats des tests de Mann-Whitney et Wilcoxon. \* :  $p < 0.05$  ; \*\* :  $p < 0.01$ ; \*\*\* :  $p < 0.001$ ; (\*) :  $0.05 < p < 0.1$  ..... 113

Tableau 7.1. : Liste des métabolites utilisés dans l'analyse LCModel ..... 120

Tableau 7.2. : Résultats des tests de Kruskal-Wallis et des comparaisons post-hoc pour les métabolites qui sont quantifiés dans la majorité des spectres. Non repris dans le tableau : Asp, Glc, GPC, Ins, Lac, NAAG, Lip09, Lip13a, Lip20, MM12, MM14, MM17, MM20. \* :  $p < 0.05$  ; \*\* :  $p < 0.01$ ; \*\*\* :  $p < 0.001$ ; (\*) :  $0.05 < p < 0.1$ . .... 123

## LISTE DES FIGURES

Figure 2.1. : (a) Effet de l'application d'un champ magnétique extérieur sur l'orientation des spins.

Notons qu'il existe deux populations de spins : les spins alignés parallèlement et ceux antiparallèlement. La première population est plus nombreuse que la deuxième, de telle sorte qu'une aimantation macroscopique  $M$  parallèle à  $B_0$  apparait. (b) Basculement de l'aimantation  $M$  parallèle à  $B_0$  ( $M_{\parallel}$ ) vers une position perpendiculaire à  $B_0$  ( $M_{\perp}$ ) suite à une impulsion RF  $90^\circ$ . L'aimantation  $M$  est en précession autour de  $B_0$  tout au long du basculement. (c) Signal de précession libre mesuré aux bornes de l'antenne réceptrice. (d) Les mécanismes de relaxation  $T_1$  et  $T_2$ . ..... 5

Figure 2.2. : (a) Séquence spin-echo. Le gradient de sélection de polarité inverse appliqué suite à l'impulsion RF  $90^\circ$  permet de corriger le déphasage induit par le premier gradient. Afin de couvrir l'espace  $K$ , il est nécessaire d'appliquer la séquence spin-echo pour différents encodages de phase, ceci est représenté par les échelons du gradient d'encodage en phase. (b) Illustration du principe de sélection de coupe. (c) L'encodage de phase. (d) Encodage en fréquence. La somme de signaux oscillants à des fréquences différentes peut être déconvoluée en différents signaux de fréquences distinctes. .... 7

Figure 2.3. : (a) Espace  $K$  (le logarithme de la valeur absolue est représenté). Différents encodages de phase permettent de parcourir l'espace dans sa largeur. L'échantillonnage du signal d'écho remplit l'espace dans sa longueur. (b) Image reconstruite à partir des données de l'espace  $K$  par transformée de Fourier inverse (image magnitude est représentée). ..... 9

Figure 2.4. : (a) Séquence spin-echo pondérée par la diffusion (Pulse Field Gradient Spin Echo). Les trapèzes bleus représentent les gradients de sensibilisation à la diffusion. Notons que les gradients ne sont pas appliqués avec une polarité opposée mais plutôt ceux-ci sont appliqués de part et d'autre de l'impulsion de  $180^\circ$ . L'amplitude relative des gradients selon les 3 axes peuvent être ajusté de façon à sensibiliser à la diffusion suivant n'importe quelle direction. (b) La colonne de gauche présente des volumes pondérés par la diffusion par simulation. La colonne de droite présente deux volumes acquis avec des b-values différentes et des directions différentes. La flèche indique la projection de la direction de sensibilisation dans le plan. Les structures hyper-intenses indiquent une diffusion faible dans la direction de la flèche et les



structures hypo-intenses indiquent une diffusion élevée. Les structures très directionnelles (comme la matière blanche) changent drastiquement d'intensité selon la direction. .... 10

Figure 2.5. : (a) Décomposition en valeurs et vecteurs propres du tenseur de diffusion et représentation par un ellipsoïde. (b) Les différents volumes du tenseur de diffusion d'un cerveau de rat à P24. L'échelle pour les éléments du tenseur sur la diagonale varie entre 0 et 1. Celle des éléments hors-diagonale varie entre -0.25 et 0.25. (c) Variations de la forme de l'ellipsoïde en fonction de la valeur des indices de diffusion. .... 14

Figure 2.6. : Cartes FA, AD, RAD et TR d'un cerveau de raton à P24. RGB-FA est une façon de visualiser le tenseur où la FA pondère l'intensité et l'information directionnelle est incluse dans la couleur (Rouge : medio-latéral ; Vert : dorso-ventral ; Bleu : rostro-caudal. Les glyphs sont une représentation du tenseur. Le même code couleur est d'application. .... 15

Figure 2.7. : (a) Les différents mécanismes de la diffusion dans les tissus biologiques. (b) L'intégrité de la matière blanche et les diffusivités axiale et radiale. En vert, l'axone ; En beige-brun, les gaines de myéline; En bleu, l'ellipsoïde du tenseur de diffusion. Le cas de gauche illustre une atteinte de la myéline et celui de droite d'une atteinte axonale. (c) Images au microscope électronique de coupes transversales d'axones. De gauche à droite, axones non-myélinisés, axones myélinisés par des cellules de Schwann et axones myélinisés par des oligodendrocytes. .... 17

Figure 2.8. : Les différentes étapes dans une analyse voxel-par-voxel. .... 20

Figure 2.9. : Les différentes étapes du recalage d'images. Adapté de Cheriet, 2014. .... 22

Figure 2.10. : Format des deux types de transformation pour le recalage d'images. (a) Les transformations linéaires sont caractérisées par une simple matrice. (b) Les transformations non-linéaires sont caractérisées par un champ de déformations dans lequel, en chaque voxel, les déplacements selon les 3 directions sont encodés. À gauche, une composante du champ de déformation et à droite, l'effet de l'application du champ sur un grillage uniformément espacé. .... 23

Figure 2.11. : Les différents modèles de transformation selon la classification de (Holden, 2008). Il a été choisi de laisser le nom des différents modèles en anglais afin de permettre une

référence plus aisée à la littérature pertinente. LDDMM : Large Deformation Diffeomorphic Metric Mapping. Adapté de Sotiras et al., 2013. ....	24
Figure 2.12. : Recalage via méthode géométrique entre une image d'anisotropie relative (A) et une coupe histologique digitalisée (B). Les primitives, ici placées manuellement, sont les points marqués d'une croix et sont appariés entre les deux images à recaler. La transformation est alors calculée de telle sorte à minimiser la distance entre chaque paire de primitives. Tiré de Budde et al., 2009. ....	25
Figure 2.13. : (a) Après la transformation T, il est nécessaire d'attribuer des valeurs au voxel dans la nouvelle grille référence. (b) Illustration de l'interpolation linéaire. L'image est filtrée et rendue continue et la valeur de chaque voxel dans le nouvel espace devient simplement la valeur au point de la grille (marqué d'une croix rouge). (c) Illustration de l'interpolation par plus proche voisin. La valeur attribuée à chaque voxel devient simplement celle du voxel le plus proche. Les flèches vertes indiquent l'attribution de l'intensité pour 3 voxels.....	28
Figure 2.14. : La réorientation des tenseurs. (a) Cas simple d'une transformation rigide. (b) Cas plus général illustré par une transformation de cisaillement. Adapté de (Zhang et al., 2006). ....	30
Figure 2.15. : (a) La taille du cluster détecté en fonction de la taille du filtre gaussien. Il apparaît clairement que la sensibilité dépend du choix du filtre. Tiré de Jones et al. (2005). (b) Illustration de l'effet de volume partiel (EVP). VBA et le lissage, sont limités à la zone incluse dans le tracé vert (masque de matière blanche). Pour chaque image, l'EVP aura une influence plus ou moins marquée, entraînant un biais dans les analyses statistiques.....	39
Figure 2.16. : (a) Squelette FA moyen (en vert) superposé à l'image FA moyenne. (b) Illustration de la projection. En vert le squelette FA moyen. Le gris représente le faisceau de matière blanche d'un sujet qui n'est pas parfaitement aligné avec le squelette moyen. En blanc, les voxels où la FA est maximale. En chaque point du squelette moyen, le voxel le plus proche perpendiculairement au tract avec la FA la plus élevée est projeté (flèches jaunes). ....	44
Figure 2.17. : Le modèle linéaire général. (a) Formulation du modèle (Searle, 1979). (b) Exemple numérique. (c) Différents contrastes envisageables pour les tests statistiques. Inspiré de Smith et al. (2014). ....	51

- Figure 2.18. : Exemple de pipeline d'une analyse statistique. À chaque étape, l'opération est définie en gras et les paramètres utilisateurs sont repris en-dessous. GLM : de l'anglais, General Linear Model..... 53
- Figure 2.19. : Les différentes méthodes pour l'analyse de groupes de données DTI. ROI : Région d'intérêt tracée sur le corps calleux de l'image RGB d'un raton à P4. Histogramme : Histogramme de la diffusivité axiale dans la matière blanche pour un sujet sham et un sujet lésé. Tractographie : Résultats de tractographie à partir du corps calleux d'un cerveau de raton à P24. VBA & TBSS : Résultats de l'analyse superposés à une image FA référence..... 54
- Figure 2.20. : (a) Illustration du déplacement chimique. (b) Un spectre acquis dans l'hippocampe in vivo lors d'une expérience de spectroscopie chez un raton âgé de 4 jours ayant reçu une injection de LPS et un traitement neuroprotecteur à l'IL1-Ra. Le SNR, calculé comme le ratio du maximum du spectre et du double de la moyenne quadratique des résidus (tels que calculé par LCModel), est de 15 et la largeur à mi-hauteur est de 0.02 ppm. ppm : parts per million. .... 57
- Figure 2.21. : Un spectre acquis dans l'hippocampe de rat à 14.1 T avec la séquence SPECIAL. Les différents composants mesurables et leur rôle sont indiqués. Tiré de Duarte et al., 2012. .... 59
- Figure 2.22. : Spectres avec différentes phases. De gauche à droite le terme imaginaire est de plus en plus important, et le spectre est de plus en plus dispersif. La correction a pour but d'obtenir l'image en A pour laquelle l'aire sous le pic du spectre d'absorption est maximale. Ici, seul le terme de correction d'ordre zéro varie..... 60
- Figure 2.23. : Reconstruction du signal mesuré par LCModel en combinant différents spectres de métabolites seuls. Tiré de Tkáč et al., 2003..... 63
- Figure 2.24. : Résultat d'une analyse LCModel. (a) Spectre original et spectre reconstruit par LCModel (en rouge). La ligne de base estimée par LCModel est également représentée. (b) Résidus de la reconstruction. (c) Concentrations des différents métabolites, la déviation standard exprimée en pourcent de la concentration estimée et concentration relativement à la créatine totale (Cr+PCr). D'autres données sur le spectre telles que la résolution et le signal-sur-bruit sont également reportées. .... 65

Figure 3.1. : Protocoles de l'acquisition des deux jeux de données à l'étude dans ce mémoire. D'autres modalités d'imagerie ont également été appliquées : l'immuno-histologie, l'imagerie optique intrinsèque et la tomographie par cohérence optique. Les images ont été fournies par Wyston C. Pierre, Edgar Guevara et Alexandre Castonguay, respectivement. ....	67
Figure 3.2. : Mosaïques des populations constituant les données DTI in vivo et ex vivo. Pour chaque ensemble, la mosaïque est constituée d'une coupe coronale unique pour chaque animal. La dernière rangée présente les trois coupes orthogonales d'un seul animal. ....	69
Figure 4.1. : Pipeline de prétraitement des données de diffusion. ....	73
Figure 4.2. : Les différents pipelines de normalisation spatiale implémentés. La matrice de score compile l'amplitude de déformation nécessaire au recalage d'un sujet sur un autre pour chaque paire de sujets. Notons que la non-symétrie de cette matrice explicite bien l'asymétrie du recalage qui caractérise de nombreux algorithmes (en l'occurrence, FNIRT). ....	76
Figure 4.3. : Segmentation automatique basée sur un atlas. ....	77
Figure 4.4. : Principe de l'analyse automatique de la matière blanche. ....	79
Figure 4.5. : Importance de la sélection des points pour la régression d'une spline cubique. Si trop peu de points sont utilisés, la courbure de la spline ne représente pas celle de la matière blanche en ce point. À l'inverse, si trop de points sont sélectionnés, des ondulations (mises en évidence par la flèche jaune) locales sont introduites. ....	80
Figure 4.6. : Paramètres de la spline pour la parcellisation. Les variations de polarité de la première et deuxième dérivée sont les premiers outils qui permettent la parcellisation. Additionnellement, l'étendue de la région segmentée (ici en vert pour le cingulum gauche) est fonction de l'angle local et de la distance au point d'inflexion. Chacun de ces paramètres est fixé par l'utilisateur. ....	81
Figure 4.7. : Algorithme de la parcellisation automatique du corps calleux. ....	82
Figure 4.8. : Pipeline de traitement des données MRS. ....	83
Figure 5.1. : FA images of the study-specific templates in stereotaxic space <sup>37</sup> for each of the three pipelines. ....	93

Figure 5.2. : (a) Empirical cumulative distribution functions (ECDF) of the dyadic coherence ( $\kappa$ ) and the coefficient of variation (COV) of four scalar diffusion indexes: FA, TR, AD, and RAD (b-e). These voxelwise metrics were computed for the white matter, defined as voxels with  $FA > 0.4$ . The ECDF is a normalized cumulative histogram with the y-axis representing the fraction of voxels having a value lower or equal to the corresponding x-axis abscissa. The insets represent the histograms of  $\kappa$  for the three pipelines and share the same axes..... 94

Figure 5.3. : (a) VBA statistical images of the AD for the contrast LPS < SHAM. The statistical images are superposed to their corresponding FA template in stereotaxic space<sup>37</sup>. These show an excellent anatomical match across methods. Note how the significance is here lower on the ipsilateral side on the two bottom rows. (b) Zoom in the region enclosed by the red square. The top row shows the FA and AD of a typical sham subject. The same images are displayed in the bottom row for an LPS subject. The mean white matter mask used for the analysis is depicted by the green outline. These two images show that the smoothing will have different effects in the regions around the dilated ventricles..... 96

Figure 5.4. : TBSS statistical images of axial diffusivity (AD) for the contrast LPS < SHAM. The statistical images are superposed to their corresponding FA template in stereotaxic space<sup>37</sup>. ..... 97

Figure 5.5. : Effect of the TBSS projection step. (a) Effect of the projection on the quality of the normalization as assessed by the dyadic coherence and the FA coefficient of variation. Data before projection are obtained when using the mean FA skeleton simply as a mask. (b) In the first column, mean FA skeleton superimposed on the mean FA for all three pipelines. The second and third columns show the voxels projected onto the mean FA skeleton for one SHAM and one LPS subject..... 98

Figure 6.1. : Segmentation de l'hippocampe chez un sujet sham à P24. En bleu, la segmentation de l'hippocampe droit (controlatéral à l'injection), en rouge celle de l'hippocampe gauche (ipsilatéral à l'injection). ..... 110

Figure 6.2. : Box plot du volume des hippocampes gauche et droit entre le groupe sham et LPS. I = Ipsilatéral; C = Controlatéral. Le code couleur fais référence à la figure 5.1. .... 111

Figure 6.3. : Box plot du volume partiel des ventricules ipsi- et controlatéraux pour les groupes sham et LPS. I= Ipsilatéral; C = Controlatéral..... 112

- Figure 7.1. : Résultats des mesures par ROI des paramètres de diffusivité dans le corps calleux et les cingulum ipsi- et controlatéraux. L'encadré en bas à droite illustre le placement des ROI. La barre indique l'écart-type. \* :  $p < 0.05$  ; \*\* :  $p < 0.01$  ; \*\*\* :  $p < 0.001$  ; \*\*\*\* :  $p < 0.0001$ .. 115
- Figure 7.2. : Les segmentations initiales sont présentées sur la première rangée. La parcellisation résultante est montrée sur la deuxième rangée. .... 117
- Figure 7.3. : Résultats des mesures dans les ROI, déterminées par la parcellisation automatique de la matière blanche sous-corticale, des paramètres de diffusivité dans le corps calleux et les cingulum ipsi- et controlatéraux. La barre indique l'écart-type. \* :  $p < 0.05$  ; \*\* :  $p < 0.01$  ; \*\*\* :  $p < 0.001$  ; \*\*\*\* :  $p < 0.0001$ ..... 118
- Figure 7.4 : Distribution de la largeur à mi-hauteur et du SNR des spectres acquis dans l'hippocampe et le corps calleux. Le SNR est défini comme à la figure 2.20..... 121
- Figure 7.5. : Résultats de spectroscopie dans l'hippocampe. La barre indique l'écart-type. \* :  $p < 0.05$  ; \*\* :  $p < 0.01$  ; \*\*\* :  $p < 0.001$ ..... 125
- Figure 7.6. : Résultats de spectroscopie dans le corps calleux. La barre indique l'écart-type. ... 126

## LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

$^1\text{H}$	Hydrogène ou proton
AD	Diffusivité axiale
ADC	Coefficient de diffusion apparente
$B_0$	Champ magnétique produit par l'aimant de l'IRM ou image sans pondération de la diffusion
CC	Coefficient de corrélation
COV	Coefficient de variation
CRLB	<i>Cramér-Rao Lower Bounds</i>
DTI	Imagerie du tenseur de diffusion
DW(I)	Image pondérée par la diffusion
ECDF	Fonction de répartition cumulative
EVP	Effet de volume partiel
FA	Anisotropie fractionnelle
FID	Décroissance de la précession libre
FWHM	Largeur à mi-hauteur
IL1-Ra	Antagoniste recombinant de l'IL1- $\beta$
IRM/MRI	Imagerie de résonance magnétique
LPS	Lipopolysaccharides
MD	Diffusivité moyenne
MI	Information mutuelle
MRS	Spectroscopie par résonance magnétique
PFA	Paraformaldéhyde
PVL	Leucomalacie périventriculaire

Px	Jour postnatal x
RAD	Diffusivité radiale
RF	Ondes radiofréquences
RMN	Résonance magnétique nucléaire
ROI	Région d'intérêt
SNR	Signal sur bruit
SSD	Somme des différences au carrés
TBSS	<i>Tract-Based Spatial Statistics</i>
TE	Temps d'écho
TFCE	<i>Threshold-Free Cluster Enhancement</i>
TR	Trace
VBA	<i>Voxel-Based Analysis</i>
VOI	Volume d'intérêt



## LISTE DES ANNEXES

Annexe A - Introduction à l'anatomie du cerveau du rat.....	154
Annexe B - Description des métabolites quantifiables en spectroscopie par résonance magnétique .....	160
Annexe C - Outils et logiciels pour l'imagerie de diffusion.....	166
Annexe D - Protocole d'acquisition des données <i>in vivo</i> .....	169
Annexe E - <i>Control file</i> de LCModel pour données P4.....	172

## CHAPITRE 1 INTRODUCTION

Les lésions cérébrales qui ont lieu tôt dans le cycle du développement de l'enfant peuvent avoir des répercussions sérieuses sur le devenir neurocognitif de l'enfant. En particulier, les bébés prématurés sont sensibles aux inflammations qui peuvent, par la suite, mener à des lésions de la matière blanche. Si celles-ci ne sont pas traitées, les capacités cognitives, comportementales et sociales de l'enfant risquent d'être altérées de façon permanente.

Ces lésions sont observables en imagerie par résonance magnétique (IRM) ce qui en fait un outil adéquat à l'étude et au suivi des lésions cérébrales du nouveau-né. En effet, l'un des avantages principaux de l'IRM est son caractère non-invasif. Contrairement aux technologies d'imagerie ionisantes, l'IRM tire son signal des atomes d'hydrogène présents dans le corps. Ainsi l'IRM permettrait de faire le suivi des enfants prématurés sans leur faire courir de risques supplémentaires.

Les mécanismes menant aux lésions de matière blanche sont diversifiés, complexes et encore peu compris. Afin de permettre l'étude de cette pathologie, dénommée leucomalacie périventriculaire, des modèles animaux ont été développés. Les modèles animaux sont une étape souvent nécessaire à l'élucidation de mécanismes pathologiques. Afin de reproduire les lésions observées, les modèles développés font appels à différents mécanismes lésionnels. La lésion est soit induite par des hypoxie-ischémies soit par l'injection d'agents inflammatoires tels que les lipopolysaccharides (LPS). Le point temporel dans le développement auquel l'insulte est faite varie aussi selon le modèle. Cette variété de façons de reproduire les lésions observées chez les prématurés représente bien la complexité étiologique de cette pathologie.

Ce mémoire se positionne dans un large projet qui consiste à déterminer des biomarqueurs pour le suivi des lésions de la matière blanche chez le nouveau-né à partir de différentes technologies d'imagerie. Afin d'appuyer cet objectif, le but du mémoire est :

O1. *L'optimisation et l'automatisation de l'analyse des données de résonance magnétique des cerveaux de rats en développement.*

Cet objectif en comporte en réalité deux :

O1.1. *L'optimisation et l'automatisation de l'analyse de données d'imagerie du tenseur de diffusion (DTI) ex vivo et in vivo*

O1.2. *L'optimisation et l'automatisation de l'analyse de données de spectroscopie par résonance magnétique (MRS).*

Pour chacun de ces sous-objectifs, les hypothèses étaient, respectivement :

H1.1 : La grande variété de méthodes d'analyse des données DTI ne permettra qu'une optimisation limitée.

H1.2 : Un pipeline dédié et optimal pour l'analyse des données MRS d'un certain protocole d'acquisition pourra être implémenté.

L'implémentation de pipelines automatisés demande de connaître le détail de chaque étape dans le processus d'analyse. De ce fait, une revue de littérature qui couvre les détails de l'analyse des données DTI et MRS, depuis l'acquisition jusqu'aux comparaisons de groupes, est proposée au chapitre 2.

Finalement, l'objectif final est d'appliquer les outils développés à l'étude de la lésion inflammatoire dans un modèle animal de la leucomalacie périventriculaire et à l'évaluation d'un traitement neuroprotecteur :

*O2. Analyse et interprétation des données de diffusion et de spectroscopie chez le raton suite à l'exposition à une lésion inflammatoire par injection de LPS.*

Pour cet objectif, il est attendu que :

H2.1 : La disruption de la matière blanche soit traduite en un changement des paramètres de diffusion.

H2.2 : La modification du profil neurochimique soit observable et quantifiable par MRS.

H2.3 : L'administration d'IL1-Ra limite la sévérité des lésions telles que mesurées par la DTI et la MRS.

## CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE

Ce chapitre commence par introduire les bases de l'imagerie par résonance magnétique, de l'imagerie du tenseur de diffusion et de la spectroscopie par résonance magnétique. La description de l'imagerie du tenseur de diffusion est accompagnée par une revue du lien entre les paramètres quantitatifs issus de la DTI et la microarchitecture du système nerveux. Ensuite, les étapes des différentes méthodes d'analyse des données DTI sont revues. Une attention particulière est prêtée à la normalisation spatiale et aux approches voxel-par-voxel.

Une revue similaire est proposée pour l'analyse des données de spectroscopie bien que celle-ci soit moins exhaustive et se concentre sur les étapes nécessaires au traitement des données disponibles dans le cadre de ce projet. En effet, contrairement à la DTI, le traitement en MRS est directement lié au protocole d'acquisition.

La revue de littérature est complétée par les annexes A et B qui décrivent l'anatomie du cerveau du rat et les métabolites observés en MRS, respectivement.

### 2.1 Introduction à l'imagerie par résonance magnétique

#### 2.1.1 La résonance magnétique nucléaire

L'imagerie par résonance magnétique est une technologie d'imagerie médicale qui se base sur le phénomène de résonance magnétique nucléaire (RMN). Ce phénomène, découvert en 1946 par Felix Bloch (Bloch et al., 1946) et Edward Purcell (Purcell et al., 1946), s'observe lorsque des noyaux à moment magnétique de spin non-nul, tels que l'hydrogène ( $^1\text{H}$ ), le carbone 13 ( $^{13}\text{C}$ ) ou le phosphore ( $^{31}\text{P}$ ), sont soumis à un champ magnétique extérieur  $B_0$ . Sous l'influence du champ  $B_0$ , les spins s'alignent avec le champ et entrent en précession autour de l'axe de  $B_0$ . C'est la précession de Larmor. Celle-ci a lieu à une fréquence spécifique  $\omega_0 = \gamma \cdot B_0$  où  $\gamma$  est le rapport gyromagnétique de l'atome en question. L'atome généralement considéré est l'atome d'hydrogène (ou proton), celui-ci présente un spin 1/2 et est abondamment présent dans les molécules biologiques, ce qui en fait une cible de choix des expériences RMN (imagerie et spectroscopie).

L'alignement des protons engendre l'apparition d'une aimantation macroscopique  $M$  parallèle à  $B_0$  (Figure 2.1a). Bien que le champ magnétique intrinsèque de chaque proton ne soit pas parfaitement parallèle à  $B_0$ , l'absence de cohérence entre les composantes perpendiculaires à

$B_0$  de ces champs individuels résulte en une aimantation totale nulle perpendiculairement à  $B_0$  (Figure 2.1a). Cette situation est une situation d'équilibre thermodynamique. En appliquant, à l'aide d'une antenne émettrice, une onde radiofréquences (RF)  $B_1$  qui oscille également à la fréquence  $\omega_0$  de précession des spins, il est possible de progressivement changer l'orientation de l'aimantation macroscopique  $M$  (Figure 2.1b). En effet, dans le référentiel tournant des protons en précession, l'onde RF est ressentie comme un champ magnétique constant et les protons entament un deuxième mouvement de précession autour de  $B_1$ . L'angle de basculement peut être ajusté en variant la durée d'application  $t$  de l'impulsion RF. Par exemple, en choisissant  $t$  tel que  $M$  bascule d'un angle de  $90^\circ$ , on applique ce qui s'appelle une impulsion RF de  $90^\circ$  et l'aimantation se retrouve alors entièrement dans le plan perpendiculaire à  $B_0$ . Notons que contrairement à l'état d'équilibre décrit précédemment, l'aimantation  $M$  est en précession à la fréquence  $\omega_0$  autour de l'axe de  $B_0$  (Figure 2.1b). C'est ce mouvement de précession qui est à l'origine du signal en résonance magnétique nucléaire. En plaçant une antenne réceptrice perpendiculairement au plan transverse, selon la loi de l'électromagnétisme de l'induction de Faraday, une tension alternative  $y$  est induite (Figure 2.1b-c). Cette tension est le signal mesuré en RMN : le signal de précession libre. En pratique, ce signal décroît au cours du temps à cause de phénomènes de relaxation (Figure 2.1c-d), on parle alors de la décroissance du signal de précession libre ou FID (de l'anglais, *Free induction decay*).

Suite à l'impulsion RF, les spins sont en cohérence de phase, c'est-à-dire qu'ils pointent tous dans la même direction. Cependant la cohérence va graduellement être perdue. En effet, le champ ressenti individuellement par chaque proton varie avec l'influence des protons voisins et des champs magnétiques électroniques moléculaires locaux. La fréquence de précession de chaque proton va donc différer du proton voisin et la cohérence de phase imposée par l'onde RF va peu à peu disparaître. C'est la relaxation spin-spin ou transversale et elle se produit avec un temps caractéristique  $T_2$  (Figure 2.1d). Ce temps varie selon l'environnement et, par extension, le type de tissu auquel appartient le proton. Il existe un deuxième mécanisme de relaxation, la relaxation spin-réseau ou longitudinale. L'énergie transmise au système via l'application de l'onde RF va se dissiper dans le milieu et l'état d'équilibre va petit à petit être rétabli. En d'autres mots, l'aimantation macroscopique  $M$  va graduellement reprendre son orientation parallèle au champ  $B_0$ . Cette relaxation est caractérisée par un temps  $T_1$  et celui-ci dépend également directement de l'environnement immédiat du proton, i.e. du tissu (Figure 2.1d). Ces mécanismes de relaxation sont

à la base des contrastes classiques en imagerie par résonance magnétique. L'atténuation du signal peut être mathématiquement exprimée par :

$$A = [1 - e^{-\frac{TR}{T_1}}]e^{-\frac{TE}{T_2}} \quad (2.1)$$

où TR est le temps de répétition entre 2 acquisitions et TE, le temps d'écho (voir plus bas).

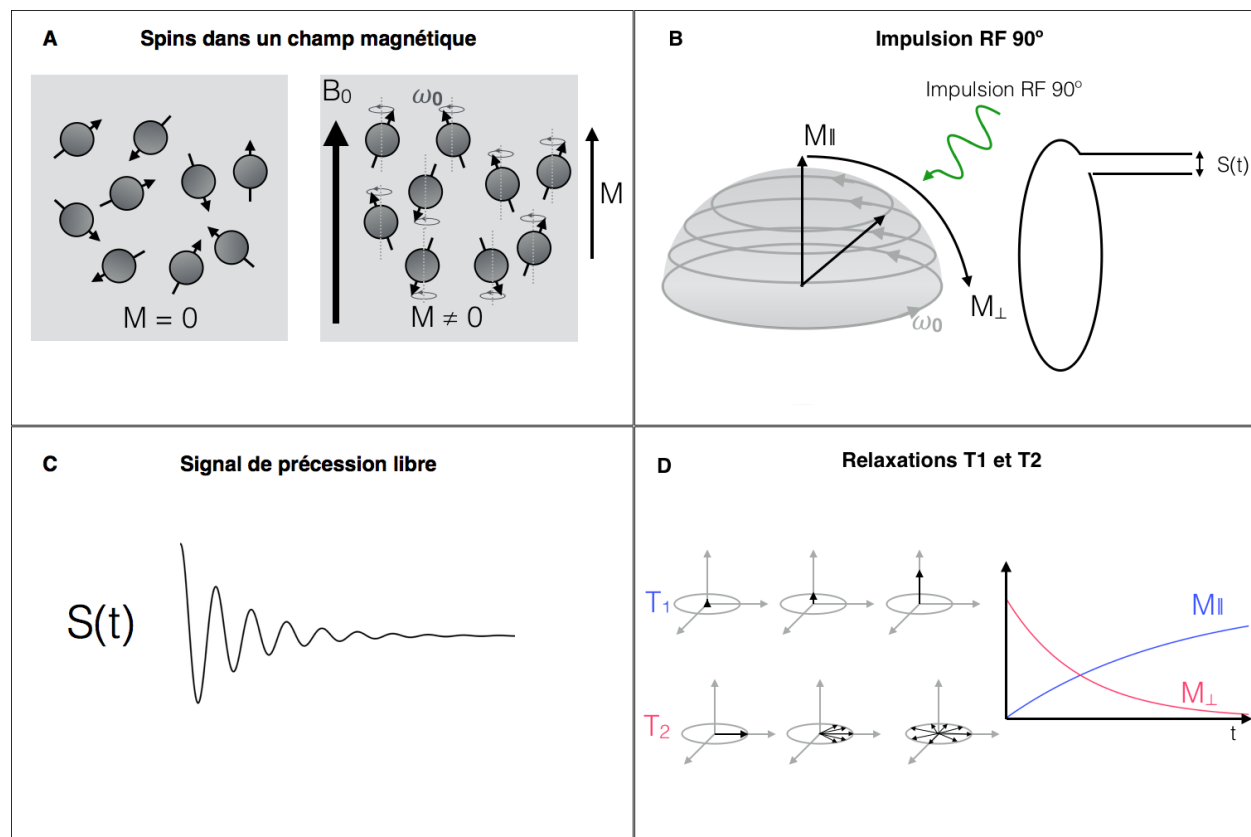


Figure 2.1. : (a) Effet de l'application d'un champ magnétique extérieur sur l'orientation des spins. Notons qu'il existe deux populations de spins : les spins alignés parallèlement et ceux antiparallèlement. La première population est plus nombreuse que la deuxième, de telle sorte qu'une aimantation macroscopique  $M$  parallèle à  $B_0$  apparaît. (b) Basculement de l'aimantation  $M$  parallèle à  $B_0$  ( $M_{||}$ ) vers une position perpendiculaire à  $B_0$  ( $M_{\perp}$ ) suite à une impulsion RF 90°. L'aimantation  $M$  est en précession autour de  $B_0$  tout au long du basculement. (c) Signal de précession libre mesuré aux bornes de l'antenne réceptrice. (d) Les mécanismes de relaxation  $T_1$  et  $T_2$ .

La découverte du phénomène de RMN sera par la suite enrichie par plusieurs chercheurs, notamment Erwin Hahn pour sa découverte de l'écho de spin en 1950 (Hahn, 1950), Proctor et Dickinson pour leur découverte du déplacement chimique en 1950 (Dickinson, 1950 ; Proctor and

Yu, 1950) ou encore Paul Lauterbur et Peter Mansfield pour le développement de l'imagerie basée sur la RMN, soit l'IRM (Lauterbur, 1973).

### 2.1.2 L'imagerie par résonance magnétique

Les phénomènes de relaxation induisent des atténuations du signal qui dépendent du tissu. Par exemple, les zones cérébrales denses en neurones, i.e. la matière grise et celles pauvres en neurones, i.e. la matière blanche présentent un signal différent. Afin de reconstruire des images 2D ou 3D, il reste à ajouter à ce signal une information spatiale. En effet si un échantillon est placé dans un champ magnétique et qu'une onde RF est appliquée, le signal capté par l'antenne est constitué de la somme de tous les signaux individuels de chaque proton présent dans l'échantillon peu importe leur position relative et le tissu auquel ils appartiennent. Afin de pouvoir séparer ce signal et attribuer une position spatiale à chaque élément, il est nécessaire d'encoder cette information dans le signal lui-même.

A cette fin, on a recours à des gradients de champ magnétique. L'application de gradients permet de relier la position et la fréquence et/ou la phase de la précession. Lorsqu'un gradient est appliqué, la fréquence de précession des protons dépend de leur position le long de la direction du gradient. L'acquisition d'une image IRM exploite cette propriété et se déroule en trois étapes. La première opération consiste à exciter les spins d'une coupe localisée par l'application d'une impulsion RF contenant une gamme de fréquences  $[\omega_1, \omega_2]$ . Simultanément, un gradient, dit de sélection de coupe, est appliqué. Ainsi, seuls les spins ayant une fréquence de précession dans l'intervalle  $[\omega_1, \omega_2]$  sont excités et participent au signal (Figure 2.2b). La deuxième étape consiste à l'encodage de phase. Soit le gradient de sélection de coupe orienté selon l'axe z, en appliquant un deuxième gradient durant une durée fixe selon l'axe y (orthogonal au gradient de sélection de coupe), un décalage de phase est induit entre les spins le long de l'axe y. En effet, pendant la durée d'application du gradient chaque spin aura une vitesse de précession différente selon sa position. Ainsi à la fin de l'application du gradient, les spins auront complété plus ou moins d'oscillations menant à un décalage de phase (Figure 2.2c). Finalement, un dernier gradient, appliqué selon l'axe x, permet de réaliser l'encodage en fréquence. Ce dernier est appliqué simultanément à l'acquisition. Le signal ainsi mesuré provient d'une coupe de position connue et la position des protons au sein de cette coupe peut être déduite de la phase et de la fréquence du signal. Pour pouvoir reconstruire une coupe entièrement, il est nécessaire de répéter l'encodage en phase  $N_y$

fois, en variant le déphasage introduit. En pratique la mesure du signal se fait par échantillonnage et le FID est mesuré à  $N_x$  points. On a donc  $N_x$  mesures pour les  $N_y$  encodages de phase qui permettent de remplir l'espace K (Figure 2.3a). L'espace K ou espace de Fourier est l'espace dual de celui de l'image. L'image est ensuite reconstruite en utilisant le formalisme mathématique de la transformée de Fourier.

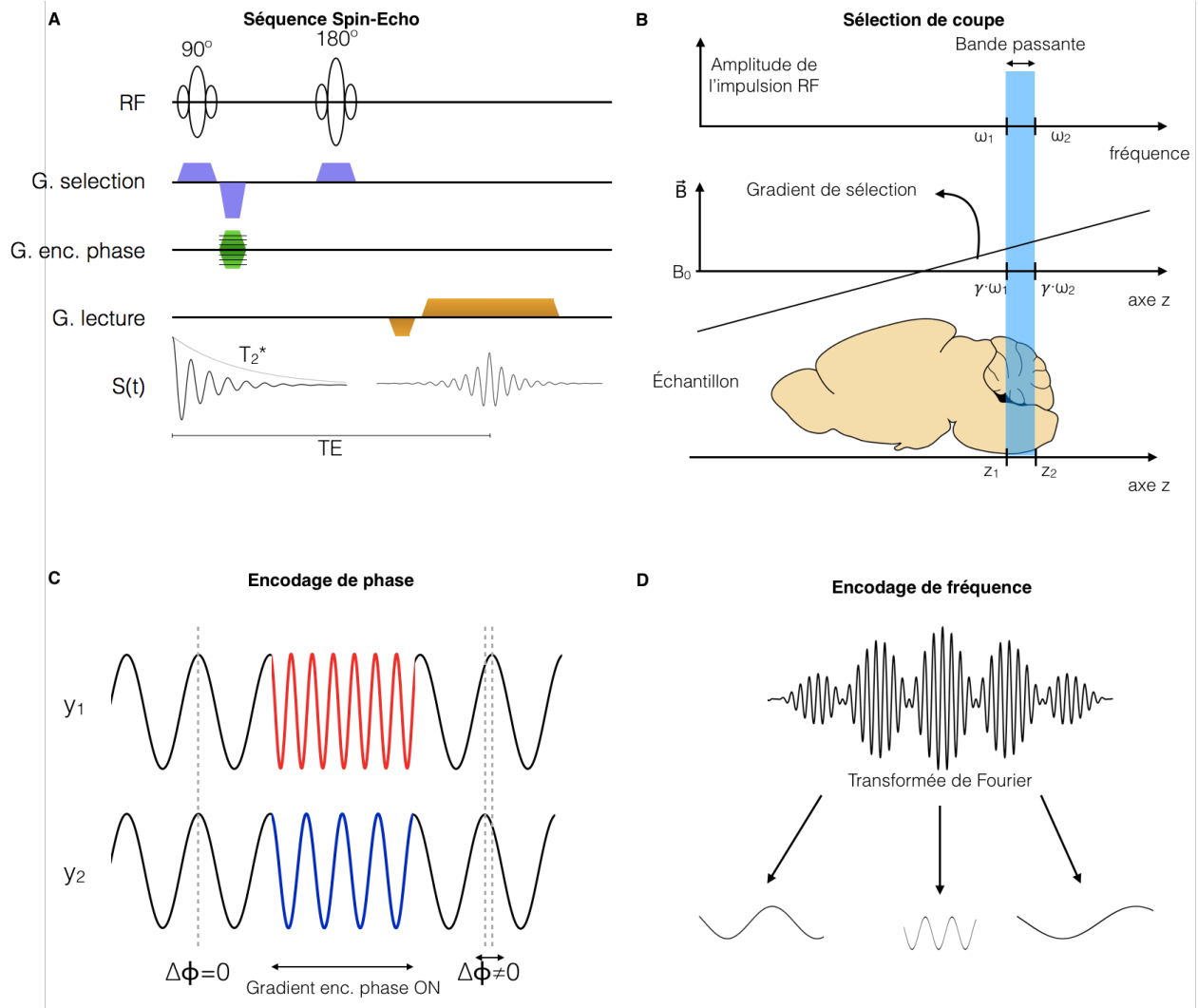


Figure 2.2. : (a) Séquence spin-echo. Le gradient de sélection de polarité inverse appliqué suite à l'impulsion RF 90° permet de corriger le déphasage induit par le premier gradient. Afin de couvrir l'espace K, il est nécessaire d'appliquer la séquence spin-echo pour différents encodages de phase, ceci est représenté par les échelons du gradient d'encodage en phase. (b) Illustration du principe de sélection de coupe. (c) L'encodage de phase. (d) Encodage en fréquence. La somme de signaux



oscillants à des fréquences différentes peut être déconvoluée en différents signaux de fréquences distinctes.

Toutes les opérations décrites précédemment (impulsions RF, gradients de sélection et d'encodage) forment ce qu'on appelle une séquence d'acquisition. La séquence spin-echo est la séquence basique d'imagerie et est présentée à la Figure 2.2a. Dans cette séquence, une deuxième impulsion RF de  $180^\circ$  est appliquée suite à celle de  $90^\circ$ . Cette impulsion de  $180^\circ$  permet de créer un écho de signal. Ce phénomène est dû à la présence d'une décroissance  $T_2^*$  beaucoup plus rapide que dans le cas théorique. Les inhomogénéités du champ  $B_0$ , les gradients de susceptibilité magnétique à l'interface des tissus sont des raisons parmi d'autres qui causent cette décroissance accélérée. En appliquant une impulsion de  $180^\circ$  le déphasage s'inverse jusqu'à ce que les spins passent par un état de cohérence transitoire, c'est l'écho. Le maximum de l'écho se trouve sur la courbe réelle de décroissance  $T_2$ . La durée entre l'impulsion de  $180^\circ$  et l'écho est le temps d'écho (TE). Il existe une panoplie incroyable de séquences IRM qui varient dans la façon de créer l'écho, parcourir l'espace K ou encore qui sont adaptées à un objectif précis comme, par exemple, mesurer la diffusion. Notons entre autres l'*echo planar imaging* (EPI) qui permet de mesurer plusieurs échos avec une seule excitation et réduit ainsi considérablement le temps d'acquisition. Cela en fait la méthode la plus utilisée en imagerie de diffusion chez l'humain.

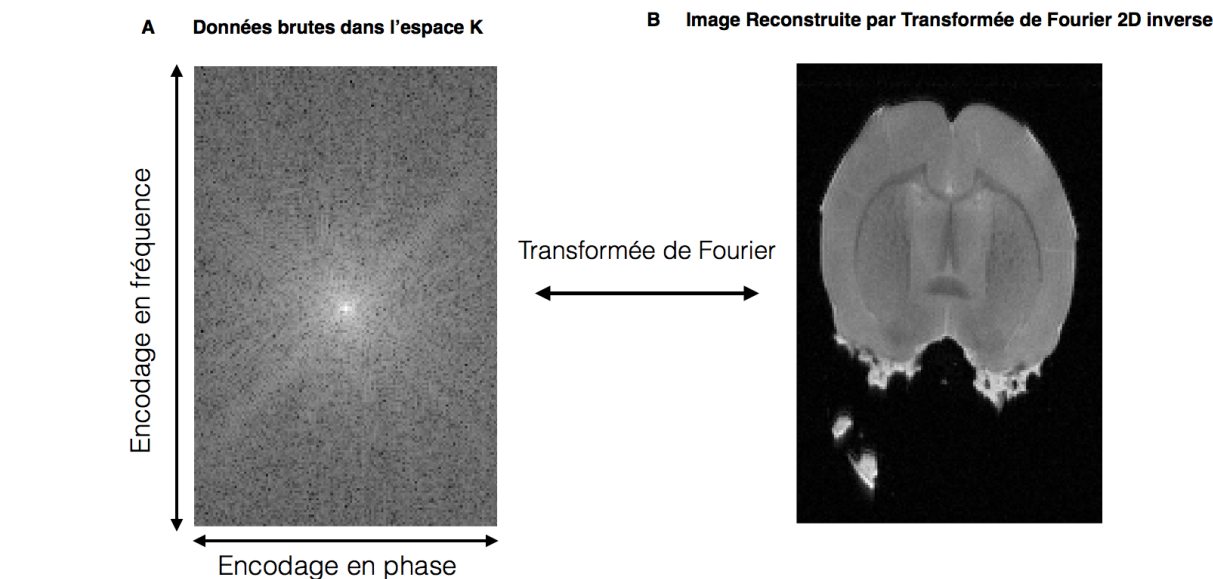


Figure 2.3. : (a) Espace K (le logarithme de la valeur absolue est représenté). Différents encodages de phase permettent de parcourir l'espace dans sa largeur. L'échantillonnage du signal d'écho remplit l'espace dans sa longueur. (b) Image reconstruite à partir des données de l'espace K par transformée de Fourier inverse (image magnitude est représentée).

## 2.2 L'imagerie du tenseur de diffusion

### 2.2.1 Pondération par la diffusion

La diffusion libre est le phénomène observé lorsque des particules sont libres de se déplacer dans un milieu homogène. Le mouvement Brownien des particules suite à l'agitation thermique entraîne la dispersion des particules dans le milieu de façon isotropique. Ce phénomène est mesurable à l'aide de séquences RMN ou IRM adéquates.

La séquence classique de pondération par la diffusion, *Pulse Field Gradient Spin Echo* (Stejskal and Tanner, 1965) est présentée à la Figure 2.4a. En appliquant un gradient pendant une durée  $\partial$ , un déphasage  $\Phi_1$ , qui dépend de la position des spins le long de la direction du gradient, est induit. Si le spin ayant subi un déphasage  $\Phi_1$  est immobile, lorsqu'un gradient identique mais de polarité inverse est appliqué, le nouveau déphasage est  $\Phi_2 = -\Phi_1$ . L'effet net est donc un déphasage nul. Si, au contraire, le spin est mobile, l'application du deuxième gradient cause un déphasage  $\Phi_2 \neq -\Phi_1$  et il reste un déphasage net qui amortit le signal. Le signal est ainsi pondéré par la diffusion. Plus le déplacement de la particule est grand, plus le déphasage est grand et le

signal réduit.

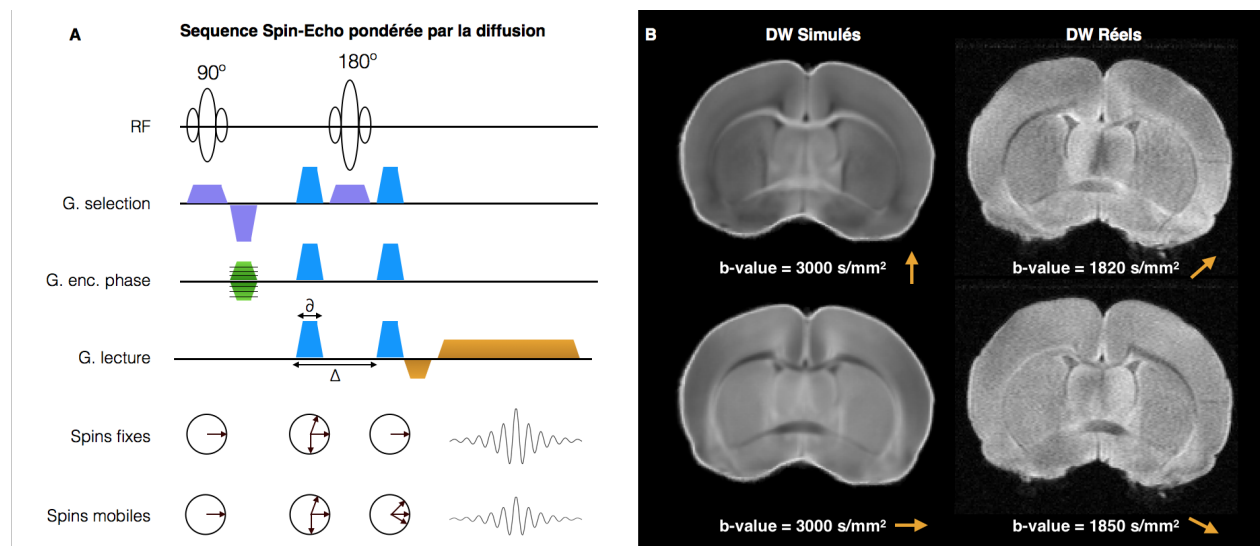


Figure 2.4. : (a) Séquence spin-echo pondérée par la diffusion (Pulse Field Gradient Spin Echo). Les trapèzes bleus représentent les gradients de sensibilisation à la diffusion. Notons que les gradients ne sont pas appliqués avec une polarité opposée mais plutôt ceux-ci sont appliqués de part et d'autre de l'impulsion de 180°. L'amplitude relative des gradients selon les 3 axes peuvent être ajusté de façon à sensibiliser à la diffusion suivant n'importe quelle direction. (b) La colonne de gauche présente des volumes pondérés par la diffusion par simulation. La colonne de droite présente deux volumes acquis avec des b-values différentes et des directions différentes. La flèche indique la projection de la direction de sensibilisation dans le plan. Les structures hyper-intenses indiquent une diffusion faible dans la direction de la flèche et les structures hypo-intenses indiquent une diffusion élevée. Les structures très directionnelles (comme la matière blanche) changent drastiquement d'intensité selon la direction.

Afin de quantifier la diffusion, il est nécessaire de mesurer précisément la pondération par la diffusion de la séquence. En effet tous les gradients (sélection de coupe, encodage de phase, encodage de fréquence, ...) ont une influence sur la pondération en diffusion. Afin de simplifier la représentation mathématique de l'effet de la diffusion, le *facteur b* a été introduit (Bihan et al., 1985 ; Le Bihan et al., 1986). Le *facteur b*, ou *b-value* en anglais, englobe l'effet de tous les gradients, de telle sorte que l'atténuation du signal peut simplement s'exprimer par l'expression :

$$A = e^{-bD} \quad (2.2)$$

où  $D$  est le coefficient de diffusion. La Figure 2.4b montre des exemples d'images pondérées par la diffusion (DWI ; de l'anglais *diffusion-weighted image*). Notons que le signal mesuré est pondéré

par la diffusion mais également par tous les autres mécanismes d'atténuation du signal ( $T_1$ ,  $T_2$ ), l'atténuation globale s'exprime donc comme :

$$A = \left[ 1 - e^{-\frac{TR}{T_1}} \right] e^{-\frac{TE}{T_2}} e^{-bD} \quad (2.3)$$

Afin d'extraire des mesures quantitatives de la diffusion, il faut se défaire de cet effet confondant. Pour ce faire, on acquiert le signal pour 2 *facteurs*  $b$  différents  $b$  et  $b_0$  (généralement  $b_0=0$ ), et en inversant Éq. 2.2, on obtient :

$$D = \frac{-\ln \frac{A(b)}{A(b_0)}}{b - b_0} \quad (2.4)$$

En pratique,  $D$  ne représente pas seulement la diffusion libre seule mais également la part de mouvement des particules dues à la perfusion sanguine. Ceci a mené au terme "Apparent Diffusion Coefficient" ou ADC. De telle sorte que (Tanner, 1977) :

$$ADC \equiv \frac{-\ln \frac{A(b)}{A(b_0)}}{b - b_0} \quad (2.5)$$

## 2.2.2 Le tenseur de diffusion et l'imagerie du tenseur de diffusion (DTI)

Dans certains milieux, tels que la matière blanche ou les fibres musculaires par exemple, la diffusion n'a pas lieu de la même façon selon toutes les directions en raison de l'existence de structures macroscopiques orientées. Il n'est alors pas possible de caractériser entièrement la diffusion avec un seul coefficient. La diffusion est alors décrite par un tenseur de diffusion  $\underline{D}$  (Basser et al., 1994a) et le *facteur*  $b$  est étendu à la *b-matrice*. Le tenseur  $\underline{D}$  et la *b-matrice* permettent, respectivement, de caractériser la diffusion et de résumer l'effet des gradients en trois dimensions. L'équation [Éq. 2.5] devient alors :

$$A = A_0 e^{-b \mathbf{g}^T \underline{D} \mathbf{g}} \quad (2.6)$$

où  $\mathbf{g}$  est le vecteur de la direction du gradient et  $\underline{D}$  le tenseur de diffusion. Cette équation comporte 7 inconnues, les 6 composantes indépendantes du tenseur (celui-ci étant symétrique) et le signal référence  $A_0$ . Afin de reconstruire le tenseur entièrement il est alors nécessaire d'acquérir un même volume en pondérant par la diffusion selon au moins 6 directions non-colinéaires et non-coplanaires avec un *facteur*  $b$  non-nul ainsi qu'un volume sans pondération, aussi appelé volume  $B_0$ , (Basser et al., 1994a). Le tenseur peut ensuite être reconstruit en chaque voxel sur base des images DW et  $B_0$  acquises et des *b-matrices* correspondantes en réalisant une régression

multivariée. La section suivante décrit brièvement les méthodes de reconstruction du tenseur de diffusion.

### 2.2.2.1 Estimation du tenseur de diffusion

La reconstruction du tenseur en chaque voxel demande de résoudre l'Éq. 2.6 en conduisant une régression multivariée à partir des volumes DW (et du volume sans pondération). Il existe différentes approches à l'estimation du tenseur de diffusion : maximum de vraisemblance (Andersson, 2008 ; Fillard et al., 2007), méthode des moindres carrés (Basser et al., 1994a ; Jones and Basser, 2004 ; Koay et al., 2006a ; Koay et al., 2006b ; Salvador et al., 2005), Bayésiennes (Andersson, 2008 ; Fillard et al., 2007) et robustes (Chang et al., 2005 ; Mangin et al., 2002).

Au sein de la classe des méthodes des moindres carrés, il existe plusieurs méthodes qui, dans l'ordre croissant de complexité, sont les moindres carrés linéaires, moindres carrés pondérés et moindres carrés non-linéaires.

### 2.2.2.2 Paramètres scalaires de la diffusion

Le tenseur de diffusion est une matrice symétrique et définie-positive. En la diagonalisant, on retrouve sur la diagonale les valeurs propres ( $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ ) qui quantifient la diffusion selon ses trois axes principaux (Figure 2.5a-b). Le tenseur peut être représenté comme une ellipsoïde dont les axes sont les directions principales du tenseur (Figure 2.5a).

Il est possible de dériver du tenseur plusieurs paramètres scalaires qui le décrivent et, par extension, la diffusion. Afin d'être intrinsèque au milieu, il est important que ces paramètres soient invariants à la rotation. C'est-à-dire qu'ils doivent être indifférents à l'orientation de l'échantillon relativement à la matrice d'acquisition et aux directions des gradients (Basser and Le Bihan, 1992 ; Basser et al., 1994b). La formulation mathématique et des illustrations des paramètres décrits ci-après sont présentées à la figure 2.6. La trace (TR) décrit la taille de l'ellipsoïde et est une mesure de l'amplitude de la diffusion. Cette quantité est parfois retrouvée sous la forme de la diffusivité moyenne (MD, de l'anglais *mean diffusivity*) ou du coefficient de diffusion apparente (ADC, de l'anglais *Apparent Diffusion Coefficient*). D'un autre côté, l'anisotropie fractionnelle (FA) décrit la forme de l'ellipsoïde. Comme son nom l'indique elle mesure le degré d'anisotropie de la diffusion. La FA est une quantité normalisée et varie entre 0 et 1. Lorsque la FA se rapproche de zéro, la diffusion est isotropique. Pour des valeurs proches de 1, la diffusion est fortement anisotropique. L'anisotropie peut également être caractérisée par l'anisotropie relative définie

comme le quotient de la variance des valeurs propres et la diffusivité moyenne. Le mode d'anisotropie (Ennis and Kindlmann, 2006) est un autre index qui permet de caractériser le type d'anisotropie. Il se rapproche de +1 lorsque  $\lambda_1 > \lambda_2 \approx \lambda_3$  et l'anisotropie est linéaire et le tenseur de forme prolata et tend vers -1 lorsque  $\lambda_1 \approx \lambda_2$  et l'anisotropie est planaire et le tenseur de forme oblate. La diffusivité axiale (AD) et la diffusivité radiale (RAD) sont deux paramètres qui ne décrivent pas entièrement le tenseur mais qui apportent tout de même une information supplémentaire. La première, AD, est simplement la valeur propre de la direction principale du tenseur de diffusion. Dans l'étude de la matière blanche, il est généralement considéré que la fibre est parallèle à la direction principale du tenseur de diffusion (Basser, 1997 ; Hsu et al., 1998). Pour cette raison, AD représente la diffusivité parallèlement au faisceau. RAD est la moyenne arithmétique des deux plus petites valeurs propres et caractérise la diffusivité perpendiculairement à la fibre. Ces deux paramètres sont essentiels à l'interprétation des changements de la FA (ou de la TR). Par exemple, une diminution de l'AD peut avoir le même effet sur la FA qu'une augmentation de la RAD. Or, comme il sera vu à la section suivante, ces deux processus ont des interprétations biologiques complètement différentes.

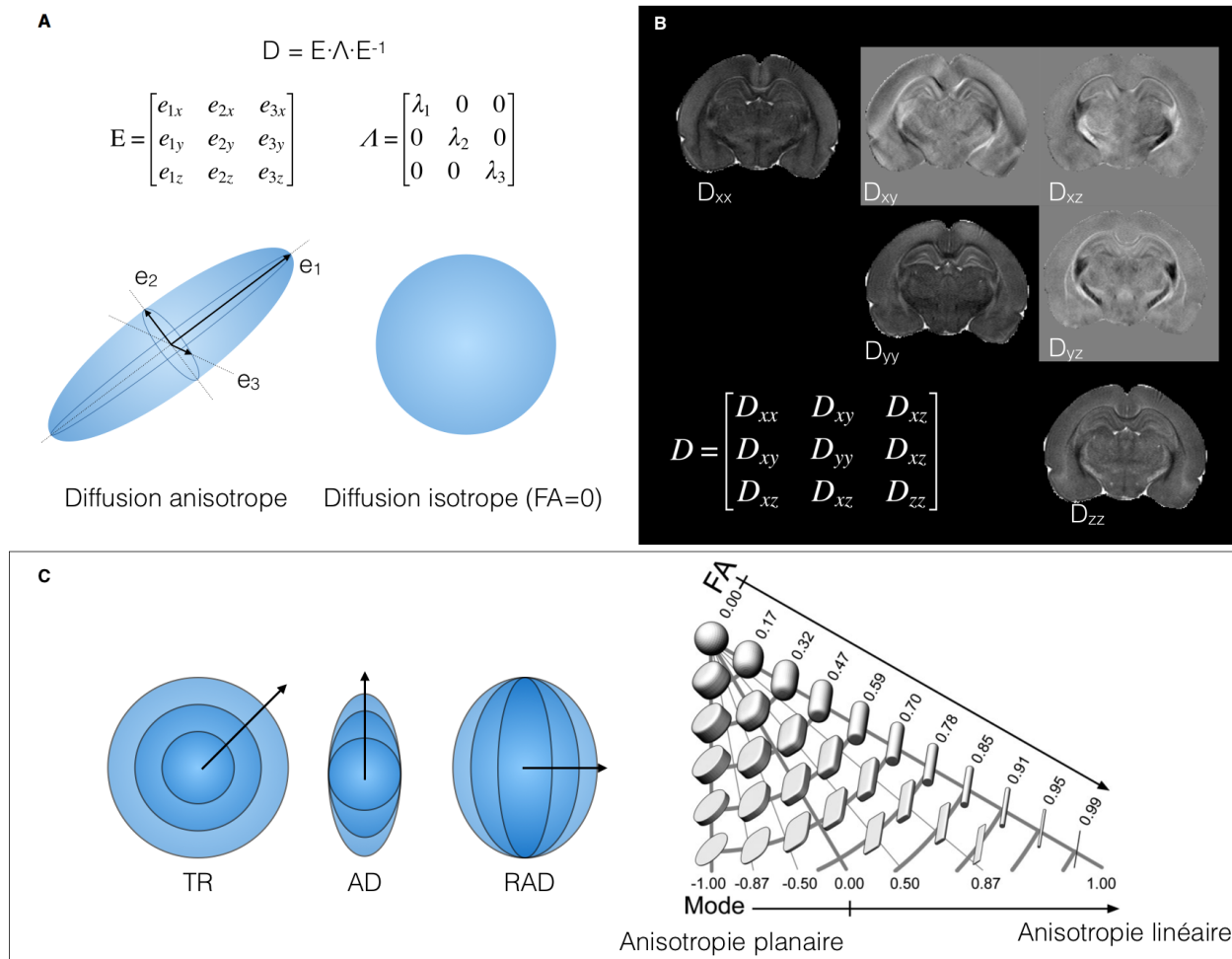


Figure 2.5. : (a) Décomposition en valeurs et vecteurs propres du tenseur de diffusion et représentation par un ellipsoïde. (b) Les différents volumes du tenseur de diffusion d'un cerveau de rat à P24. L'échelle pour les éléments du tenseur sur la diagonale varie entre 0 et 1. Celle des éléments hors-diagonale varie entre -0.25 et 0.25. (c) Variations de la forme de l'ellipsoïde en fonction de la valeur des indices de diffusion.

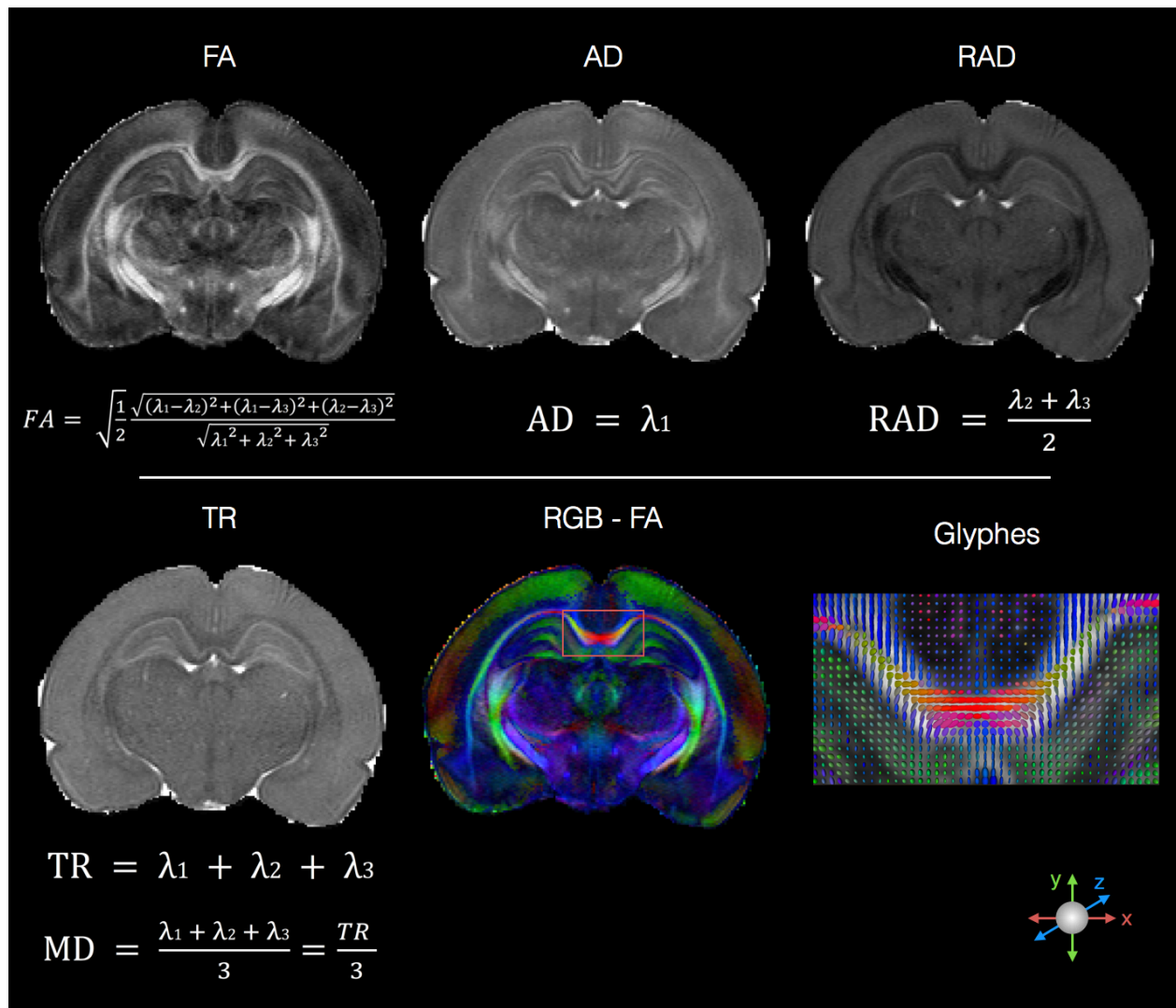


Figure 2.6. : Cartes FA, AD, RAD et TR d'un cerveau de raton à P24. RGB-FA est une façon de visualiser le tenseur où la FA pondère l'intensité et l'information directionnelle est incluse dans la couleur (Rouge : medio-latéral ; Vert : dorso-ventral ; Bleu : rostro-caudal. Les glyphes sont une représentation du tenseur. Le même code couleur est d'application.

La structure directionnelle et organisée des faisceaux de matière blanche rend la diffusion très anisotrope, et la FA y est élevée ( $>0.2$  chez l'humain et  $>0.4$  chez le rat). D'un autre côté, les structures de la matière grise ne présentent pas une directionnalité particulière et la FA y est plus faible. Les images FA constituent donc un excellent contraste matière blanche / matière grise et sont très largement utilisées en recherche pour évaluer l'intégrité de la matière blanche. L'hypothèse est que si l'intégrité de la matière blanche est atteinte, la dégradation de la microarchitecture sera reflétée par des changements en FA. Cependant, il est difficile de



directement lier des changements en FA à la microstructure. Plusieurs paramètres entrent en jeu (AD, RAD) sans oublier l'effet des régions où des faisceaux se croisent et pour lesquelles le tenseur représente l'effet combiné de deux populations (ou plus) de fibres orientées différemment. La section suivante revoit dans quelle mesure les paramètres de diffusion reflètent la microarchitecture sous-jacente et de quelle façon cette microarchitecture se reflète dans les paramètres de diffusion.

## **2.2.3 Lien à la biologie**

### **2.2.3.1 La diffusion dans les systèmes biologiques**

Dans un système biologique, les particules d'eau ne diffusent pas librement et se heurtent à différents composants de leur environnement (macromolécules, parois cellulaires, etc.). En quantifiant la diffusion de ces particules, il est alors possible de sonder la microstructure du milieu. Il existe différents processus de diffusion dans les tissus biologiques : la diffusion restreinte, la diffusion au travers des membranes perméables, la diffusion tortueuse et la diffusion gênée par les interactions avec les macromolécules et les surfaces polarisées (Figure 2.7a). La diffusion dans les tissus biologiques est donc largement multifactorielle et il n'est pas toujours évident de lier des changements dans la diffusion à la microstructure du tissu.

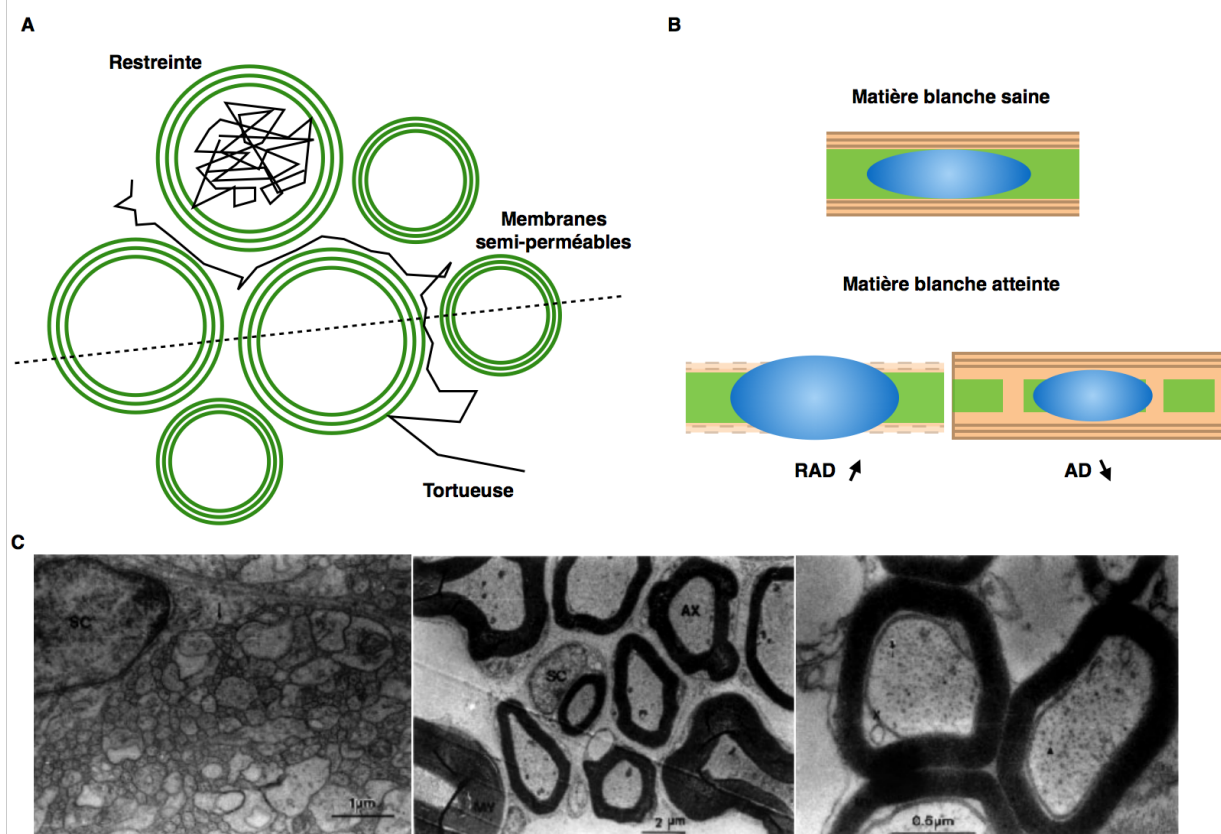


Figure 2.7. : (a) Les différents mécanismes de la diffusion dans les tissus biologiques. (b) L'intégrité de la matière blanche et les diffusivités axiale et radiale. En vert, l'axone ; En beige-brun, les gaines de myéline; En bleu, l'ellipsoïde du tenseur de diffusion. Le cas de gauche illustre une atteinte de la myéline et celui de droite d'une atteinte axonale. (c) Images au microscope électronique de coupes transversales d'axones. De gauche à droite, axones non-myélinisés, axones myélinisés par des cellules de Schwann et axones myélinisés par des oligodendrocytes.

### 2.2.3.2 Lien entre les paramètres de diffusion et la microstructure dans le système nerveux central

De nombreuses études ont été consacrées à élucider la nature de l'anisotropie dans le système nerveux (voir la revue par Beaulieu (2002)). Différents facteurs ont été envisagés : le cytosquelette des axones (microtubules et microfilaments), les membranes axonales ou encore les gaines de myéline. Beaulieu et Allen (1994) ont sélectivement détruit les microtubules et noté que l'anisotropie était conservée. La même observation a été faite par Kinoshita *et al.* (1999) en détruisant sélectivement le cytosquelette. Ces résultats suggèrent que le cytosquelette axonal et ses

constituants ne sont pas à l'origine de l'anisotropie. Beaulieu et Allen (1994) se sont également intéressés au rôle de la myéline. Ils ont comparé la diffusion dans trois types d'axones : un axone naturellement non-myélinisé, un axone myélinisé par des cellules de Schwann et un axone myélinisé par des oligodendrocytes (Figure 2.7c). Aucune différence en anisotropie n'a été observée. Ces résultats suggèrent que la cause principale de l'anisotropie est la membrane axonale. Ceci a été confirmé dans diverses études où des axones naturellement non-myélinisés (Beaulieu, 2002 ; Seo et al., 1999 ; Takahashi et al., 2002), des axones au stade développemental pré-myélinisation (Drobyshevsky et al., 2005 ; Larvaron et al., 2007) ou encore des axones dans des modèles animaux de dysmyélinisation (Ono et al., 1995 ; Song et al., 2002) ont démontré une diffusion anisotrope. Les gaines de myéline, initialement supposées comme la cause principale de l'anisotropie (Basser and Pierpaoli, 1996), modulent l'anisotropie plutôt que ne la causent (Nair et al., 2005 ; Song et al., 2002 ; Tyska et al., 2006). Une conséquence importante de ces observations est que de faibles changements en anisotropie, i.e. en FA, peuvent parfois représenter de sévères pathologies.

Il est facile de se rendre compte que l'aspect multifactoriel de la diffusion dans les systèmes biologiques rend l'établissement d'un lien univoque entre paramètres de diffusion et microstructure très compliqué, voire impossible. On ne peut en général qu'émettre des hypothèses qu'il faut par la suite confirmer par des méthodes d'imagerie post-mortem (histologie, microscopie électronique, ...).

Cependant, quelques liens existent tout de même. Dans une étude de Song *et al.* (2005), des souris reçoivent un traitement de Cuprizone, qui affecte directement les fibres de matière blanche et cause la démyélination. Cette démyélination est corrélée avec une augmentation de la diffusivité radiale sans atteinte à la diffusivité axiale. De plus, suite à l'arrêt du traitement, la ré-myélinisation est accompagnée d'une réduction de RAD. Cette expérience montre que myélinisation et diffusivité radiale sont intimement liées. Dans la moëlle épinière, la diffusivité axiale a été liée dans plusieurs études à la densité et/ou l'intégrité axonale (Budde et al., 2008; Schwartz et al., 2005). Ces liens sont illustrés dans la Figure 2.7b. Une corrélation de la protéine acide fibrillaire gliale, un marqueur de cellules gliales, avec l'AD a aussi été démontrée par Wang *et al.* (2009), soulignant l'effet sur la diffusion des macromolécules.

## 2.3 Traitement post-acquisition des données de diffusion

### 2.3.1 Traitement des images pondérées par la diffusion

Suite à l'acquisition, il est nécessaire de procéder à un traitement des données brutes, i.e. des DWI, avant de procéder à la reconstruction des tenseurs de diffusion. Les courants de Foucault et le mouvement sont les principales sources de dégradation des DWI.

Les courants de Foucault sont causés par un champ magnétique changeant qui entraîne un courant dans un conducteur qui ressent cette variation. Ce courant va à son tour causer un gradient de champ magnétique qui dégrade le signal. Les courants de Foucault causent ainsi des distorsions dans les DWI. Ce phénomène est particulièrement important en EPI où de nombreuses alternances de gradients sont appliquées. De même, si l'échantillon/patient se déplace entre l'acquisition de deux DWI, les voxels ne sont plus en correspondance et il ne sera pas possible de reconstruire le tenseur de diffusion de façon robuste.

Il existe différentes approches pour corriger ces distorsions (Andersson and Skare, 2002; Bastin, 2001; Bodammer et al., 2004; Haselgrove and Moore, 1996; Rohde et al., 2004) bien que, généralement, celles-ci sont corrigées par un recalage linéaire de chaque image DW à l'image sans pondération (Soares et al., 2013). Afin de conserver l'information directionnelle, il est important d'appliquer toute rotation appliquée aux DWI à la *b-matrice*, sans quoi des erreurs seront introduites (Leemans and Jones, 2009). De plus, dans le cas où le recalage est effectué par une transformation non-linéaire, il est nécessaire de recalculer les intensités en chaque voxel pour prendre en compte les changements de volume locaux causés par la transformation (Rohde et al., 2004).

### 2.3.2 Traitement des données DTI

Une fois le tenseur estimé, il est nécessaire de s'assurer de la qualité de la régression. Les résidus de la régression sont un bon indicateur de la qualité de l'estimation du tenseur. Lorsque des méthodes d'estimation plus simples sont appliquées, les moindres carrés linéaires par exemple, cette étape est impérative. De même pour des données très bruitées. Des résidus trop importants indiquent que le tenseur dérivé ne représente pas les données brutes et toute mesure quantitative extraite en ce point n'est pas valide. Aussi, il est nécessaire de s'assurer que les tenseurs sont symétriques et définis positifs.

## 2.4 Analyse automatique des données de DTI

Dans cette section les différentes étapes d'une analyse automatisée pour des données de DTI sont présentées. Les sections couvrent chaque étape de l'analyse : 1) *La normalisation spatiale* afin de mettre les voxels à travers tous les cerveaux en correspondance anatomique et dans un même espace (section 2.4.1), 2) le traitement des données spécifique des analyses voxel-par-voxel (section 2.4.2), 3) l'analyse statistique (section 2.4.3). La dernière section couvre les autres approches qui existent pour l'analyse de données DTI.

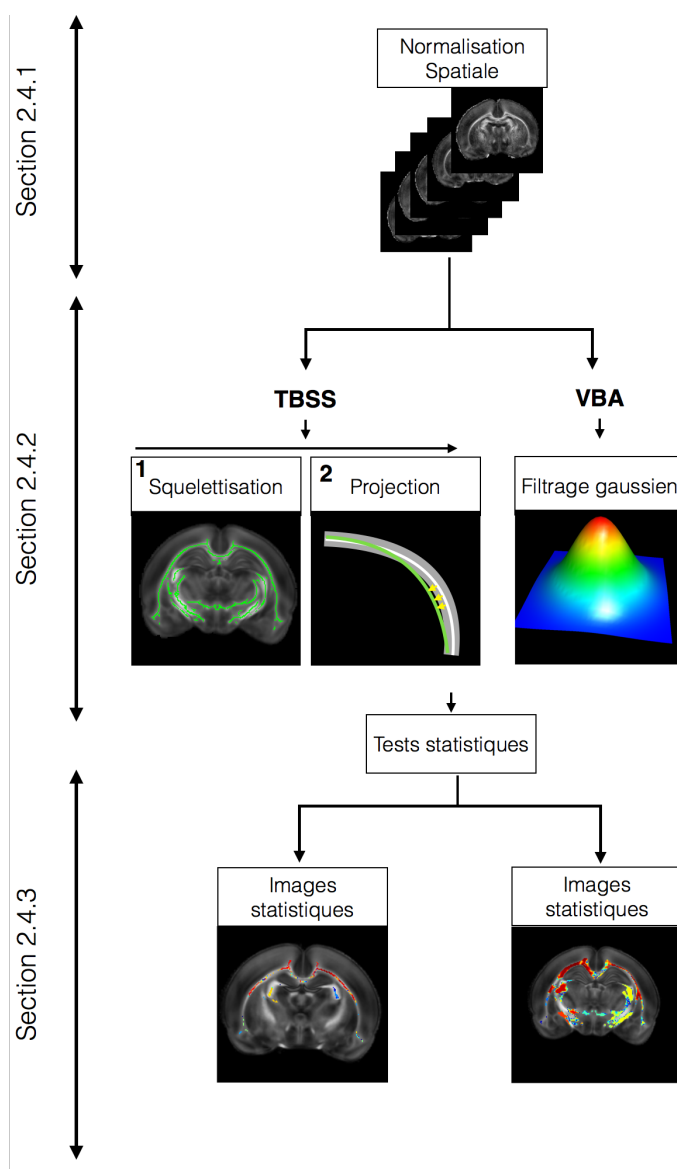


Figure 2.8. : Les différentes étapes dans une analyse voxel-par-voxel.

## 2.4.1 Le recalage et la normalisation spatiale

Toutes les méthodes d'analyse voxel-par-voxel reposent sur la normalisation<sup>1</sup>. En cas de mauvaise normalisation, les erreurs de recalage<sup>2</sup> contribuent au résultat des analyses d'une façon non-contrôlée et l'interprétation des résultats devient alors ambiguë (Ashburner and Friston, 2000; Bookstein, 2001; Jones et al., 2007). Afin d'améliorer la validité et la reproductibilité des analyses automatiques, il est impératif de s'assurer que la contribution des défauts de recalage est minimale.

Cette section permet d'établir les aspects du recalage essentiels à la compréhension, au choix et à la paramétrisation d'algorithmes de recalage en neuro-imagerie et en particulier au recalage d'images du tenseur de diffusion.

### 2.4.1.1 Le recalage

Le recalage d'images est "*le calcul d'une transformation permettant de mettre en correspondance deux ensembles de données, afin de comparer ou de combiner leurs informations respectives*" (Cheriet, 2014). Le recalage peut se faire entre deux images d'une même modalité (comparer) ou entre différentes modalités (combiner). Quel que soit l'objectif, le principe est le même : la *transformation* visant à mettre en correspondance les deux images est *optimisée* afin de minimiser/maximiser une certaine *mesure de similarité* (Figure 2.9).

---

<sup>1</sup> La normalisation (spatiale) désigne le processus via lequel un ensemble d'images est transformé dans un même espace afin de mettre toutes les structures en correspondance.

<sup>2</sup> Le recalage désigne l'action d'aligner une image sur une autre. Une image A est recalée sur une image B si elle est transformée dans l'espace de B. Si l'image B est une image référence (template standard ou spécifique à l'étude), on dit alors que l'image A est normalisée dans l'espace de B.

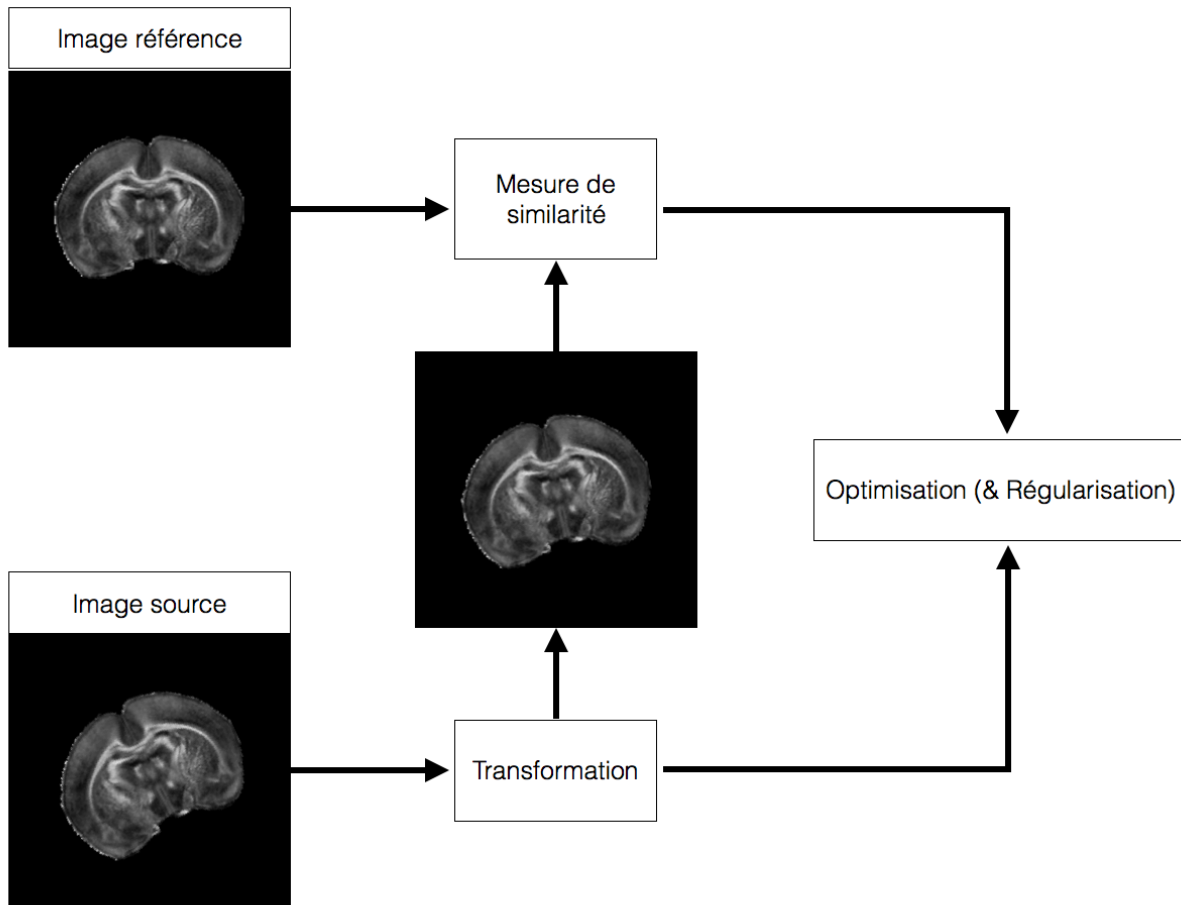


Figure 2.9. : Les différentes étapes du recalage d'images. Adapté de Cheriet, 2014.

#### 2.4.1.1.1 Modèles de transformation

Les modèles de transformation déterminent l'espace dans lequel l'optimisation a lieu. Il existe deux grandes classes de modèles de transformation : linéaires et non-linéaires.

Les transformations linéaires modélisent les transformations par des processus géométriques linéaires tels que la translation ou la rotation. Ce sont des transformations globales qui sont définies identiquement pour tous les voxels de l'image. Les transformations linéaires sont soit rigides soit affines. Une transformation rigide n'affecte pas la forme de l'objet et est exclusivement limitée à une rotation et à une translation. En 3D, cette transformation nécessite l'estimation de 6 paramètres : 3 pour la translation et 3 pour la rotation. Les transformations affines étendent les transformations rigides en incluant le cisaillement et la mise à l'échelle. Ce type de

transformation conserve le parallélisme entre les droites. En 3D, les transformations affines nécessitent l'estimation de 12 paramètres (Figure 2.10a).

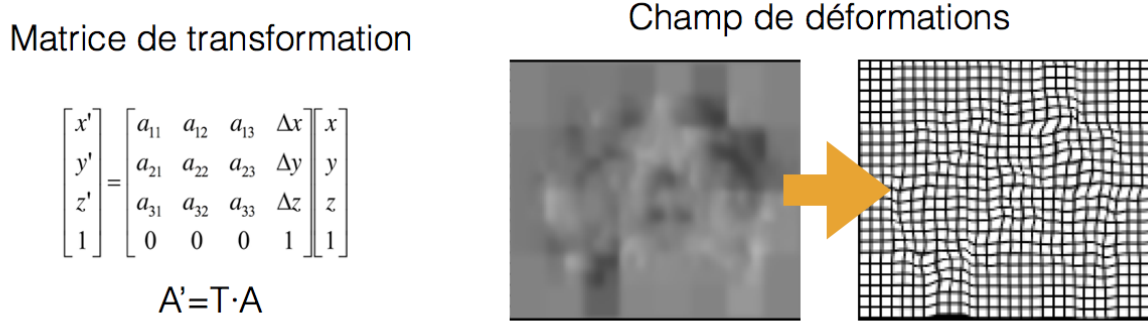


Figure 2.10. : Format des deux types de transformation pour le recalage d'images. (a) Les transformations linéaires sont caractérisées par une simple matrice. (b) Les transformations non-linéaires sont caractérisées par un champ de déformations dans lequel, en chaque voxel, les déplacements selon les 3 directions sont encodés. À gauche, une composante du champ de déformation et à droite, l'effet de l'application du champ sur un grillage uniformément espacé.

Les transformations non-linéaires ou élastiques déforment les lignes droites en courbes (Figure 2.10b). Il existe une incroyable variété de transformations non-linéaires et une classification est présentée à la Figure 2.11. Ces transformations sont décrites par un champ de déformation dense et, contrairement aux transformations linéaires, varient dans l'espace. Le problème de recalage pour les transformations non-linéaires peut être mathématiquement décrit par la fonction objectif :

$$\mathcal{M}(\mathcal{T}, \mathcal{S} \circ \mathcal{W}) + \mathcal{R}(\mathcal{W}) \quad (2.7)$$

où  $\mathcal{M}(A, B)$  représente la similarité entre A et B selon une métrique  $\mathcal{M}$ ,  $\mathcal{S}$  l'image source,  $\mathcal{T}$  l'image référence,  $\mathcal{W}$  la transformation et  $\mathcal{R}(\mathcal{W})$  le terme de régularisation de la transformation (cf. section 2.4.1.1.3). Estimer un champ de déformations revient à estimer un vecteur (3 composantes, une pour chaque direction) en chaque point sur base d'une information d'intensité généralement scalaire. De ce fait, le problème est mal posé au sens d'Hadamard (1925) et la solution est directement dépendante du choix du modèle.



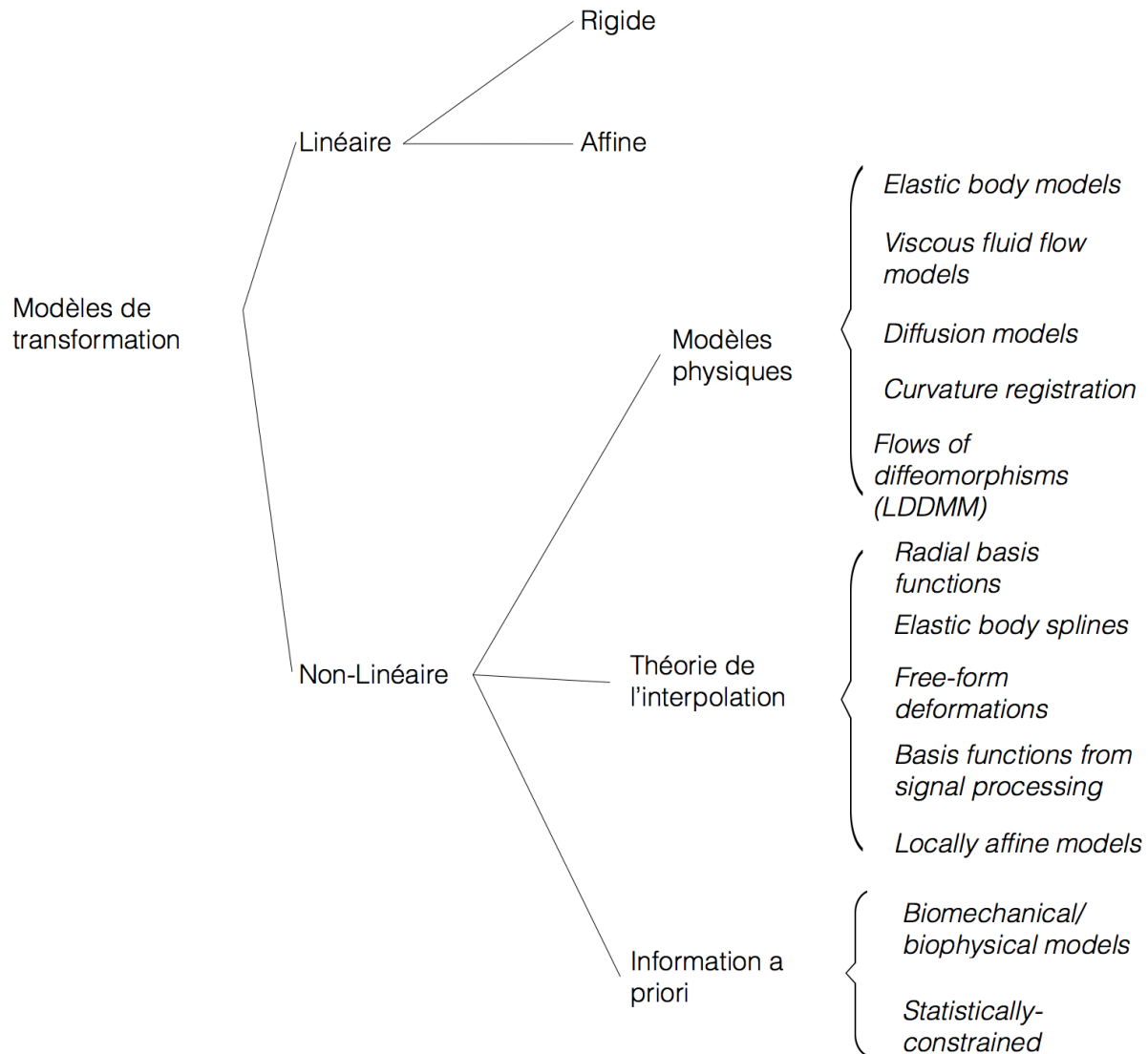


Figure 2.11. : Les différents modèles de transformation selon la classification de (Holden, 2008). Il a été choisi de laisser le nom des différents modèles en anglais afin de permettre une référence plus aisée à la littérature pertinente. LDDMM : Large Deformation Diffeomorphic Metric Mapping. Adapté de Sotiras et al., 2013.

#### 2.4.1.1.2 Mesures de similarité

En plus du modèle de transformation, il faut également choisir une métrique de similarité  $\mathcal{M}(A, B)$ . Il existe deux classes : les méthodes géométriques et iconiques. Les méthodes géométriques quantifient la similarité via des primitives (points, courbes, ...) dans les images à recaler. Les méthodes iconiques comparent les profils d'intensité des deux images.

Les méthodes géométriques nécessitent l'extraction des primitives et la transformation est alors celle qui permet au mieux d'établir une correspondance entre ces primitives. Les primitives peuvent être placées manuellement par l'utilisateur ou extraites de l'image par segmentation. Ce genre d'approche est plus généralement appliqué dans le cadre de la vision par ordinateur (voir (Goshtasby, 2012)) et pour des images 2D. Bien que des exemples d'application en neuro-imagerie ne soient pas rares (Figure 2.12).

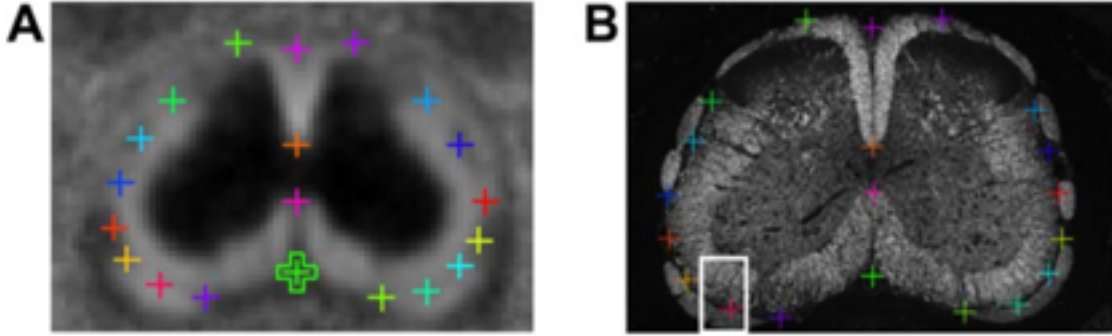


Figure 2.12. : Recalage via méthode géométrique entre une image d'anisotropie relative (A) et une coupe histologique digitalisée (B). Les primitives, ici placées manuellement, sont les points marqués d'une croix et sont appariés entre les deux images à recaler. La transformation est alors calculée de telle sorte à minimiser la distance entre chaque paire de primitives. Tiré de Budde et al., 2009.

Les méthodes iconiques, pour lesquelles le critère de similarité est basé sur les profils d'intensité, ne nécessitent pas un traitement préalable (extraction de primitives) et sont plus généralement appliquées pour le recalage d'images IRM. Deux cas sont à distinguer, le cas uni-modal et multimodal. Lors du recalage uni-modal, le contraste est le même et il est possible d'appliquer des métriques qui comparent les niveaux d'intensité. L'une des plus utilisée est la somme du carré des différences (SSD de l'anglais, *sum of squared differences*) définie comme :

$$SSD(\mathcal{T}, \mathcal{S} \circ \mathcal{W}) = \frac{1}{N} \sum (\mathcal{T} - \mathcal{S} \circ \mathcal{W})^2 \quad (2.8)$$

où  $N$  est le nombre de pixels de l'image. Le coefficient de corrélation (CC) est également une métrique largement utilisée et est définie dans un voisinage de taille fixée comme :

$$\frac{\sigma_{\mathcal{T}, \mathcal{S} \circ \mathcal{W}}}{\sigma_{\mathcal{T}} * \sigma_{\mathcal{S} \circ \mathcal{W}}} \quad (2.9)$$

où  $\sigma_{\mathcal{T}, \mathcal{S} \circ \mathcal{W}}$  est la variance dans la région unie de l'image  $\mathcal{T}$  et  $\mathcal{S} \circ \mathcal{W}$  et  $\sigma_{\mathcal{T}}, \sigma_{\mathcal{S} \circ \mathcal{W}}$  est la variance dans

chaque région séparément. Pour le recalage multimodal, il n'est pas adéquat de comparer directement les intensités. Dès lors ces métriques se basent plutôt sur la théorie de l'information. On peut citer entre autre l'entropie conjointe ou l'information mutuelle (MI).

Notons que certains algorithmes (Avants et al., 2008) permettent de combiner plusieurs métriques de façon pondérée. Il est alors possible de réaliser le recalage en considérant, par exemple, l'information mutuelle avec un poids  $w_1$ , le coefficient de corrélation avec un poids  $w_2$  tout en marquant certaines primitives dont la correspondance doit être assurée avec un poids  $w_3$ . Ceci illustre bien le large éventail de possibilités pour le recalage d'images.

#### *2.4.1.1.3 Optimisation & régularisation*

Le dernier aspect du recalage est l'optimisation. Il s'agit de déterminer de quelle façon l'espace des transformations est parcouru afin de trouver un extremum (minimum ou maximum selon la métrique choisie) de la fonction objectif. En d'autres mots, de déterminer la transformation qui satisfait au mieux le critère de similarité et les contraintes additionnelles (régularisation). On peut entre autres citer les méthodes de descente de gradient, les méthodes quasi-Gauss, la méthode de Gauss-Newton ou encore de Levenberg-Marquardt. Les méthodes d'optimisation sont généralement intrinsèques à l'implémentation de l'algorithme de recalage et il n'est pas nécessaire du point de vue de l'utilisateur d'en connaître les subtilités. Le lecteur intéressé est référé à (Holden, 2008; Sotiras et al., 2013) pour plus de détails.

La régularisation permet de restreindre le problème mal-posé à un sous-ensemble de solutions. Il est aussi possible via la régularisation d'introduire des informations a priori dans le modèle de la transformation. La régularisation peut se faire implicitement via la paramétrisation du champ de déformations par certains types de fonctions (B-splines, fonctions à base radiale, ...) ou explicitement via des contraintes ajoutées à la fonction objectif. Par exemple, l'algorithme FNIRT (Andersson et al., 2007) régularise le champ de déformations via un terme d'énergie de membrane qui limite les déformations localement aiguës et rend le champ de déformations plus continu et réaliste.

Dans le cadre du recalage d'images médicales, plusieurs propriétés sont désirables : la symétrie de la transformation, la préservation de la topologie et le difféomorphisme.

La symétrie est une propriété importante afin d'obtenir un recalage non-biaisé par le choix de l'image référence. En effet, si cette propriété n'est pas explicitement incluse dans la fonction objectif (Avants et al., 2008) ou forcée par le terme de régularisation (Leow et al., 2007), les

transformations estimées par le recalage de A sur B ou par le recalage de B sur A seront différentes.

La préservation de la topologie (ou homéomorphisme) est une propriété qui empêche deux structures de se combiner en une seule. Les transformations élastiques peuvent parfois être non-injectives et il est nécessaire de contraindre les modèles à l'injectivité. Le déterminant du Jacobien permet de mesurer cette propriété localement. Il est plus grand que 0 lorsque la topologie est préservée. En contrôlant le déterminant du Jacobien, il est alors possible de s'assurer que la topologie est préservée (Christensen et al., 1996; Musse et al., 2001). Notons, que la transformation doit être différentiable afin de pouvoir calculer le Jacobien et son déterminant.

Le difféomorphisme assure que la transformation est inversible et que les deux transformations (directe et inverse) sont différentiables. Une transformation difféomorphique est simultanément homéomorphique. La plupart des algorithmes utilisés pour le recalage en neuro-imagerie sont soit difféomorphiques par construction (Avants et al., 2008) ou par contrainte (Andersson et al., 2007).

Les différentes propriétés définies dans les paragraphes précédents peuvent ainsi être imposées via la régularisation. Cette liste n'est cependant pas exhaustive et d'autres propriétés sont envisageables telle que, par exemple, la conservation du volume.

L'optimisation est souvent combinée à une approche multi-résolution afin d'éviter de tomber dans un extremum local. La multi-résolution peut tant bien décrire différents niveaux de résolution de l'image que différents niveaux de complexité dans le modèle de transformation. Dans le premier cas, la résolution de l'image est réduite par sous-échantillonnage ou par lissage (ou une combinaison des deux) et le recalage est initié à l'échelle la plus grossière. La transformation est ensuite raffinée en réduisant progressivement l'échelle. Dans le deuxième cas, le recalage est généralement réalisé avec différents modèles de transformation suivant un ordre de complexité croissant. Le recalage est initialisé par une transformation rigide ou affine et est suivie d'une transformation non-linéaire. La transformation finale est la combinaison des 2 (ou plus) transformations.

#### *2.4.1.1.4 Interpolation*

Dans le cadre du recalage, il est également important d'aborder le sujet de l'interpolation. Dans une image, les intensités des voxels sont définies sur une grille. Lorsqu'une image est transformée sur une autre, les grilles de l'image référence et de l'image source ne se superposent pas et il est nécessaire d'interpoler pour attribuer à l'image transformée une intensité en chaque

point de la grille référence (Figure 2.13a). Pour ce faire, les données sont rendues continues en convoluant l'image avec des filtres continus. Et la nouvelle intensité des voxels de l'image source sur la grille référence est simplement celle en chaque point de la grille dans l'espace continu (Figure 2.13b). On peut, entre autres, citer les filtres trilineaires, gaussiens, splines ou sinc. En plus de ces méthodes, il existe la méthode du *plus proche voisin*. La valeur du voxel dans le nouvel espace discret est alors déterminée par celle du voxel le plus proche (Figure 2.13c). Cette méthode est généralement appliquée lorsque des images qui prennent des valeurs discrètes, comme des segmentations, sont transformées.

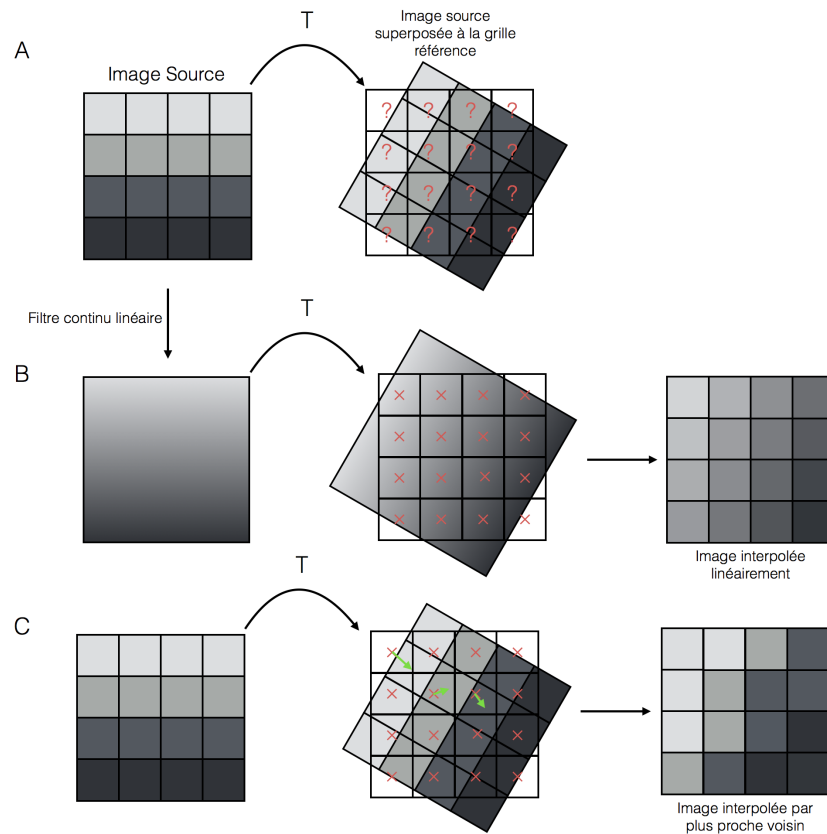


Figure 2.13. : (a) Après la transformation  $T$ , il est nécessaire d'attribuer des valeurs au voxel dans la nouvelle grille référence. (b) Illustration de l'interpolation linéaire. L'image est filtrée et rendue continue et la valeur de chaque voxel dans le nouvel espace devient simplement la valeur au point de la grille (marqué d'une croix rouge). (c) Illustration de l'interpolation par plus proche voisin. La valeur attribuée à chaque voxel devient simplement celle du voxel le plus proche. Les flèches vertes indiquent l'attribution de l'intensité pour 3 voxels.

Les conséquences de l'interpolation sur le recalage sont complexes (Tsao, 2003) et le choix optimal est difficile et dépend du cas à l'étude. Il est de bonne pratique de limiter le nombre d'interpolations d'une même image au strict minimum (en combinant les transformations s'il y en a plusieurs) et d'éviter d'interpoler un groupe d'images plus qu'un autre au risque d'introduire un biais lié à l'interpolation (de Bakker et al., 2016).

#### 2.4.1.2 Le recalage d'images DTI

Les données DTI présentent un défi supplémentaire pour le recalage. Le tenseur contient une information directionnelle qu'il est nécessaire de préserver après la transformation.

Initialement, le recalage a été abordé classiquement en utilisant les images scalaires FA ou  $B_0$  (cf. tables 2.3 et 2.5). En réalisant le recalage via les cartes scalaires, qui ne contiennent aucune information directionnelle, le problème de conservation de l'information directionnelle est éliminé. Cependant, il a été démontré qu'utiliser les 6 composantes du tenseur de diffusion permet d'obtenir un meilleur recalage (Park et al., 2003). En effet, l'information comprise dans les 6 composantes permet de mieux poser le problème de recalage et d'ainsi réduire l'espace des solutions. Différents algorithmes qui en tirent profit ont été développés (Geng et al., 2010; Park et al., 2003; Van Hecke et al., 2007; Zhang et al., 2006).

Lorsque les transformations sont appliquées aux images tensorielles, il faut s'assurer que l'orientation du tenseur est conservée. Ce problème de réorientation est illustré à la figure 2.14. Dans le cas simple d'une transformation rigide, il suffit d'appliquer la même rotation au tenseur (Figure 2.14a). Dans les cas plus généraux, la réorientation est basée sur l'hypothèse que les transformations n'affectent pas la forme du tenseur mais simplement sa direction (Zhang et al., 2006). Ce principe développé dans (Alexander et al., 2001) s'appuie sur le fait que le tenseur décrit directement la microstructure et qu'une modification en taille ou forme du tissu à une échelle macroscopique devrait laisser la microstructure inchangée. Alexander *et al.* (2001) ont proposé plusieurs stratégies pour répondre au problème de réorientation. Notamment, l'approche de la préservation de la direction principale et celle des contraintes finies. La stratégie de préservation de la direction principale permet de mieux gérer la réorientation lorsque des déformations de cisaillement ont lieu, celle-ci est décrite ci-après. Soit  $e_{1,i}$  le vecteur principal du tenseur avant la transformation et  $e_{1,f}$  le vecteur obtenu en appliquant la transformation à  $e_{1,i}$ . La deuxième direction principale est également prise en compte dans la réorientation pour englober les cas où le tenseur est oblate. La transformation de réorientation est alors celle qui applique  $e_{1,i}$  sur  $e_{1,f}$  et  $e_{2,i}$  sur  $e_{2,f}$ .

où  $e_{2',f}$  est orthogonal à  $e_{1,f}$  et dans le plan défini par  $e_{1,f}$  et  $e_{2,f}$  où  $e_{2,f}$  est défini comme  $e_{1,f}$  (Figure 2.14b).

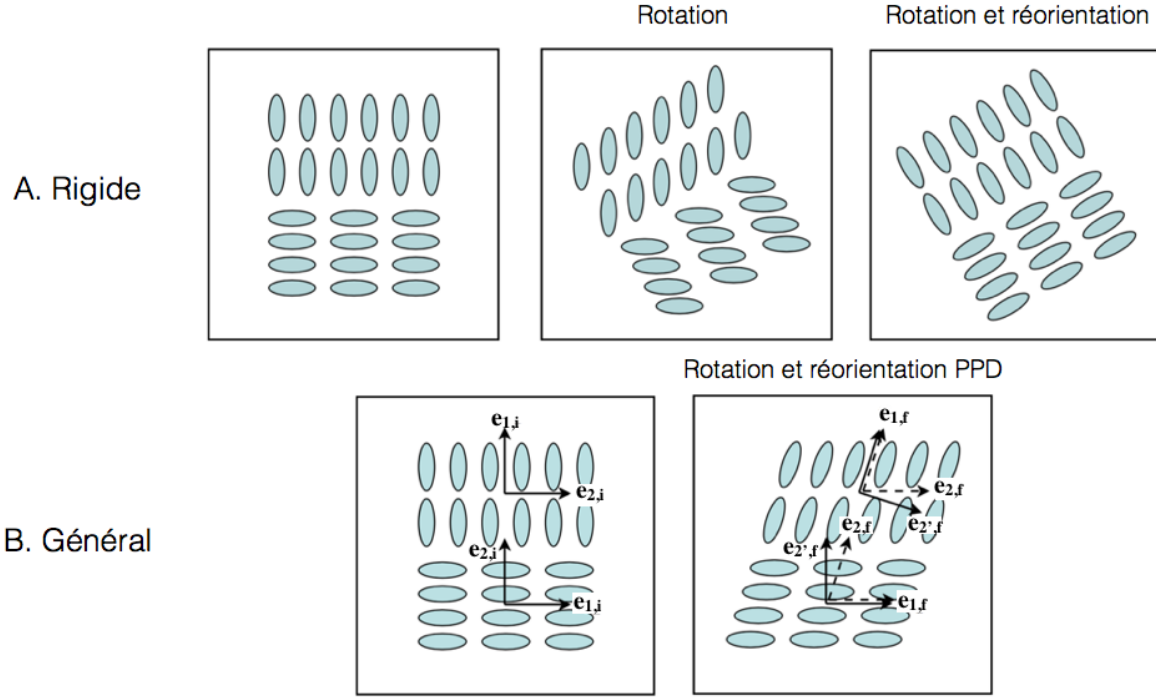


Figure 2.14. : La réorientation des tenseurs. (a) Cas simple d'une transformation rigide. (b) Cas plus général illustré par une transformation de cisaillement. Adapté de (Zhang et al., 2006).

Des métriques spécifiques au tenseur de diffusion ont également été définies (Alexander and Gee, 2000), citons entre autre la distance euclidienne et la distance déviatorique. La distance euclidienne (ED) entre 2 tenseurs  $D_1$  et  $D_2$  est définie comme (Zhang et al., 2006) :

$$ED(D_1, D_2) = \sqrt{TR(D_1 - D_2)^2} \quad (2.10)$$

La distance déviatorique est une mesure qui prend en compte l'anisotropie du tenseur (Zhang et al., 2006) et est définie comme :

$$DD(D_1, D_2) = \sqrt{\frac{8\pi}{15} (ED(D_1, D_2)^2 - \frac{1}{3} TR^2(D_1 - D_2))} \quad (2.11)$$

### 2.4.1.3 Les algorithmes principaux en neuro-imagerie

La table 2.1 regroupe différents algorithmes rendus disponible à la communauté pour le recalage d'images en neuro-imagerie. L'absence de *gold-standard* rend la comparaison des

algorithmes non-linéaires difficile et le choix d'un algorithme se base sur le modèle ou même souvent sur l'accessibilité de l'algorithme. FNIRT (FMRIB Non-linear Registration Tool) est l'un des algorithmes les plus employés dans l'analyse de données DTI, or il a été démontré dans une évaluation à grande échelle conduite par (Klein et al., 2009) que FNIRT se classait 7ème sur 14. Cependant, FNIRT est distribué avec le populaire module d'analyse en neuro-imagerie FSL (Jenkinson et al., 2012) et est inclus comme algorithme de recalage par défaut dans les pipelines d'analyse (cf. TBSS, section 2.4.2.2).

L'étude de (Klein et al., 2009) compare les algorithmes du tableau 2.1 marqués d'un <sup>a</sup> ainsi que JRD-fluid (Chiang et al., 2007), SICLE (Christensen, 1999) et ROMEO (Hellier et al., 2001) qui n'y sont pas repris. La comparaison se fait à une échelle relativement grossière via des mesures de chevauchement des surfaces et volumes (voir section 2.4.1.5), de similarité des volumes et de métriques de distance entre des images segmentées manuellement (*gold standard*) et automatiquement par l'algorithme à l'essai. SyN et ART ont été classés premiers et ont démontré une grande précision pour tous les jeux de données utilisés dans l'évaluation.

Tableau 2.1. : Algorithmes de recalage non-linéaire en neuro-imagerie publiquement disponibles.

\*Algorithmes spécifiquement développés pour le recalage de données DTI ; <sup>a</sup>Algorithmes évalués dans Klein et al. (2009) ; <sup>b</sup>Algorithmes évalués dans Wang et al. (2011). <sup>c</sup>Les algorithmes "Demons" sont des variantes de l'approche utilisant des contraintes de flux optique proposée dans Thirion, 1996. FSL : FMRIB Software Library ; ANTs : Advanced Normalization Tools.

Algorithme (Module)	Modèle de déformation	Publication référence	Lien de téléchargement
<b>AIR<sup>a</sup></b>	<i>Polynomials</i>	Woods et al., 1998	<a href="http://air.bmap.ucla.edu">air.bmap.ucla.edu</a>
<b>ANIMAL<sup>a</sup></b>	<i>Locally affine model</i>	Collins et al., 1994	<a href="http://www.bic.mni.mcgill.ca/user/s/louis/MNI_ANIMAL_home/readme">www.bic.mni.mcgill.ca/user/s/louis/MNI_ANIMAL_home/readme</a>
<b>ART<sup>a</sup></b>	<i>Free-form</i>	Ardekani et al., 2005	<a href="http://www.nitrc.org/projects/art">www.nitrc.org/projects/art</a>
<b>Diffeomorphic Demons<sup>a,b</sup></b>	<i>Demons<sup>c</sup></i>	Vercauteren et al., 2007	<a href="http://hdl.handle.net/1926/510">hdl.handle.net/1926/510</a>
<b>DTI-TK<sup>a,b,*</sup></b>	<i>Locally affine model</i>	Zhang et al., 2006	<a href="http://dti-tk.sourceforge.net">dti-tk.sourceforge.net</a>
<b>FNIRT<sup>a,b</sup> (FSL)</b>	<i>Basis functions</i>	Andersson et al., 2007	<a href="http://fsl.fmrib.ox.ac.uk">fsl.fmrib.ox.ac.uk</a>



Algorithme (Module)	Modèle de déformation	Publication référence	Lien de téléchargement
<b>IRTK<sup>a,b</sup></b>	<i>Free-form</i>	Rueckert et al., 1999	<a href="http://www.doc.ic.ac.uk/~dr/software">www.doc.ic.ac.uk/~dr/software</a>
<b>SyN<sup>a</sup> (ANTs)</b>	<i>Flows of diffeomorphism (LDDMM)</i>	Avants et al., 2008	<a href="http://www.picsl.upenn.edu/ANTS">www.picsl.upenn.edu/ANTS</a>
<b>SPM5<sup>a</sup></b>	<i>Basis functions</i>	Ashburner and Friston, 1999	<a href="http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm5">www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm5</a>
<b>Demons-Log<sup>b</sup></b>	<i>Demons<sup>c</sup></i>	Vercauteren et al., 2008	<a href="http://www.nitrc.org/projects/brainsdemonwarp">www.nitrc.org/projects/brainsdemonwarp</a>
<b>MedInria<sup>b,*</sup></b>	<i>Demons<sup>c</sup></i>	Yeo et al., 2008	<a href="http://www-sop.inria.fr/asclepios/software/MedINRIA">www-sop.inria.fr/asclepios/software/MedINRIA</a>

Une autre étude réalisée par Wang *et al.* (2011) évalue 7 algorithmes non-linéaires (tableau 2.1) dans le cadre précis du recalage d'images DTI. Les mesures de similarités sont basées sur le profil d'intensité le long de faisceaux issus de la tractographie (cf. section 2.4.4.3) et l'orientation de la direction principale entre les images recalées et un atlas référence. DTI-TK<sup>3</sup> a permis d'obtenir le meilleur recalage au sens de ces métriques. D'autres algorithmes non-repris dans le tableau existent, notamment une approche, qui considère toutes les composantes du tenseur, développée par Van Hecke *et al.* (2007) basée sur un modèle de fluides visqueux.

Au vu des ces résultats, trois algorithmes en particulier ont été étudiés et sont brièvement décrits ci-dessous : SyN, DTI-TK et FNIRT.

#### 2.4.1.3.1 Symmetric Normalisation (SyN)

SyN a été choisi pour sa haute performance (Avants et al., 2010; Klein et al., 2009) et sa disponibilité dans un module regroupant divers outils de neuro-imagerie (*Advanced Normalisation Tools* ou *ANTs*). Ce module propose en outre des routines pour la construction de templates (voir section 2.4.1.4). L'algorithme calcule les transformations de l'image source vers l'image référence

---

<sup>3</sup> DTI-TK est avant tout le nom de la boîte à outils (*Diffusion Tensor ToolKit*). Cependant, tout au long de ce mémoire, cette appellation est utilisée pour d'écrire l'algorithme de recalage qui y est implémenté. Cet abus de langage est courant dans la littérature, l'algorithme n'ayant pas de nom propre. La distinction entre les deux significations se fait aisément selon le contexte.

et de l'image référence vers l'image source simultanément et s'assure ainsi que la transformation finale est symétrique. La restriction à l'espace difféomorphique offre la possibilité de calculer de larges déformations (Beg et al., 2005; Trouvé, 1998). La symétrie permet d'éliminer le biais du choix de l'image source et de l'image référence.

#### 2.4.1.3.2 *Diffusion Tensor Toolkit (DTI-TK)*

Plusieurs études ont démontré que DTI-TK permettait une normalisation de haute qualité (Bach et al., 2014; Wang et al., 2011; Zhang et al., 2007a). De plus, l'algorithme a été spécialement développé pour le recalage d'images DTI en prenant avantage de l'information complète du tenseur et en optimisant explicitement la réorientation des tenseurs. L'algorithme fait partie de la catégorie "*locally affine*", i.e. affín localement (Figure 2.11). Pour ce type d'algorithme, les images sont progressivement subdivisées en régions de plus en plus petites, avec, à chaque niveau, un recalage affín entre paires de régions. Afin d'assurer la continuité du champ de déformations, des contraintes aux interfaces des régions sont incluses dans le processus d'optimisation.

#### 2.4.1.3.3 *FNIRT*

FNIRT est l'algorithme de recalage non-linéaire distribué avec le populaire module d'analyse *FMRIB Software Library* ou FSL (Jenkinson et al., 2012). Le champ de déplacements est modélisé par des B-splines cubiques et la régularisation de la déformation se fait par une minimisation de l'énergie des membranes (Andersson et al., 2007).

#### 2.4.1.4 **La normalisation spatiale**

La normalisation spatiale est le fait de recaler un ensemble d'images dans un espace référence. Ceci est nécessaire dans le cadre d'analyses voxel-par-voxel. Il existe différentes façons de procéder à la normalisation. Hormis le choix entre les différents modèles de transformations et algorithmes, le paramètre principal de la normalisation est le choix de l'image référence. L'image référence peut soit être un sujet unique soit une image construite à partir d'une population. De plus, l'image référence peut être un template publiquement disponible auquel cas il s'agit d'un template standard (voir Tableau 2.2).

Choisir un sujet unique comme template est sous-optimal car le choix est arbitraire et la normalisation est inévitablement biaisée par ce choix. Cependant, cette approche est simple et ne requiert pas l'implémentation de méthodes de construction de templates qui peuvent nécessiter de

lourds calculs. Pour cette raison, cette approche est amplement appliquée (Bar-Shir et al., 2009; Beloosesky et al., 2013; Hofstetter et al., 2013; Pfefferbaum et al., 2015; Qin et al., 2013; Van Camp et al., 2009) et particulièrement pour l'étude de populations pour lesquelles un template standard n'est pas disponible.

Les templates construits à partir d'une population peuvent permettre de se livrer de ce biais ou, du moins, de le limiter. Une approche simple à la construction d'un tel template est de calculer l'image moyenne suite à une normalisation spatiale à une image choisie. Guimond *et al.*, (2000) ont étendu cette approche en ajoutant une étape où l'image moyenne est transformée par le champ de déformation moyen de l'image moyenne vers toutes les autres images. Ce type d'approche se base sur le choix initial d'un sujet particulier et le template construit reste biaisé envers ce choix. Cependant, le template contient l'information morphologique et d'apparence de chaque sujet de la population. D'autres approches plus complexes (Avants et al., 2010; Van Hecke et al., 2008; Zhang et al., 2007b) permettent la construction de templates non-biaisés via une construction basée sur la population entière. Une étude de Van Hecke *et al.* (2011) évaluant l'impact du choix du template pour la normalisation montre qu'utiliser un template spécifique à l'étude et non-biaisé comparativement à un template basé sur le choix d'un sujet ou un template standard, améliore la sensibilité et spécificité des analyses voxel-par-voxel.

Les templates standards permettent de définir un espace commun à différentes études, ce qui facilite la comparaison entre études. Souvent, ceux-ci servent également d'atlas, c'est-à-dire que différentes régions anatomiques sont segmentées et identifiées. Ils sont généralement définis dans un espace stéréotaxique tel que défini par Talairach and Tournoux (1988). Le tableau 2.2 regroupe les différents atlas DTI disponibles chez le rat.

Tableau 2.2. : Atlas du cerveau du rat avec contrastes DTI publiquement disponibles.

<sup>1</sup>Segmentation du cerveau dans son entièreté ; <sup>2</sup>Segmentation des différentes parties de l'hippocampe ; ID : Diffusion isotropique ; DWI : Images pondérées par la diffusion.

Atlas	Âge	Pop.	Résolution (µm)	# structures	Contrastes	Lien de téléchargement
<b>Rumple <i>et al.</i>, 2013</b>	P5	20	70x70x70	39		<a href="http://www.nitrc.org/projects/dti_rat_atlas">www.nitrc.org/projects/dti_rat_atlas</a>
	P14	22	70x70x70	45	FA; MD	
	P72	6	125x125x125	29		
<b>Calabrese <i>et al.</i>, 2013; Calabrese et Johnson, 2013</b>	P0, P2, P4, P8, P12, P18, P24, P40, P80	5	50x50x50	26	AD; FA; MD; RAD	<a href="http://www.civm.duhs.duke.edu/ratbraindevatlas">www.civm.duhs.duke.edu/ratbraindevatlas</a>
<b>Waxholm space atlas of the Sprague-Dawley Rat Brain v2.0</b> ( <sup>1</sup> Papp <i>et al.</i> , 2014; <sup>2</sup> Kjonigsen <i>et al.</i> , 2015)	P80	1	39x39x39	76 <sup>1</sup> + 13 <sup>2</sup>	RGB; FA; ID; B <sub>0</sub> ; DWI; T <sub>2</sub> *	<a href="http://software.incf.org/software/waxholm-space-atlas-of-the-sprague-dawley-rat-brain">software.incf.org/software/waxholm-space-atlas-of-the-sprague-dawley-rat-brain</a>
<b>Veraart <i>et al.</i>, 2011</b>	P545	1	88x88x88	14	FA; RGB; B <sub>0</sub> ; T <sub>1</sub>	<a href="http://scalablebrainatlas.incf.org/rat/VSNetal11">scalablebrainatlas.incf.org/rat/VSNetal11</a>

#### 2.4.1.5 Évaluation de la qualité du recalage

Afin de comparer différents algorithmes ou stratégies de normalisation, il est nécessaire d'établir des métriques qui permettent de quantifier la qualité du recalage. Dans le cas du recalage non-linéaire, il n'est généralement pas possible de connaître l'alignement parfait et la comparaison se base sur l'hypothèse que les métriques choisies quantifient correctement le degré d'alignement. Notons que Rohlfing (2012) a démontré, en développant un faux algorithme de recalage, que ces hypothèses ne sont pas toujours remplies pour les métriques de similarité et de chevauchement, notamment.

##### 2.4.1.5.1 Métriques basées sur le profil d'intensité

Les mesures de similarité (CC, MI, ...) utilisées pour le recalage, sont les premiers candidats pour quantifier la qualité du recalage (Adluru et al., 2012; Siddiqui et al., 2012; Zhilkin et al., 2008) étant donné que les algorithmes se basent, entre autres, sur ces dernières pour quantifier la qualité de l'alignement. Cependant, si un algorithme optimise le recalage en fonction d'une

métrique, choisir celle-ci pour quantifier la performance du recalage biaise inévitablement la comparaison.

#### 2.4.1.5.2 Mesures de chevauchement

Une autre manière d'aborder le problème est de prendre pour référence des segmentations manuelles. En comparant la segmentation obtenue automatiquement par recalage sur un atlas (cf. section 4.1.3) et la segmentation manuelle, il est possible de quantifier la qualité du recalage. Ce type de mesures permet de quantifier le recalage à l'échelle des régions délimitées. Pour des raisons pratiques, les régions sont relativement grandes et la quantification ne permet d'estimer la qualité du recalage qu'à une échelle grossière. La mesure de chevauchement de Jaccard  $J_{A,B}$  pour deux régions A et B est donnée par :

$$J_{A,B} = \frac{|A \cap B|}{|A \cup B|} \quad (2.12)$$

Il existe aussi l'index de chevauchement de Dice  $D_{A,B}$  défini comme :

$$D_{A,B} = \frac{2|A \cap B|}{|A| + |B|} \quad (2.13)$$

#### 2.4.1.5.3 Métriques exclusives au tenseur de diffusion

Dans le cas particulier de la comparaison d'images DTI, d'autres métriques basées sur les tenseurs (ED, DD, ...) et l'orientation des directions principales sont envisageables. Par exemple, le recalage peut également être estimé sur base des valeurs et vecteurs propres. Ceux-ci définissent entièrement le tenseur et caractérisent sa forme, sa taille et son orientation. Le chevauchement des paires valeurs propres-vecteurs propres entre deux tenseurs permet de caractériser la similarité entre tenseurs et est donné par (Basser and Pajevic, 2000) :

$$OVL = \frac{\sum_{i=1}^3 \lambda_i \lambda'_i (\varepsilon_i \varepsilon'_i)^2}{\sum_{i=1}^3 \lambda_i \lambda'_i} \quad (2.14)$$

où  $\lambda_i$  et  $\varepsilon_i$  sont les valeurs propres et vecteurs propres respectivement.

#### 2.4.1.5.4 Métriques basées sur une population

Les métriques présentées précédemment peuvent se calculer entre deux images. Cependant, certaines métriques permettent de quantifier la qualité de la normalisation et n'ont de sens que

lorsque l'on considère une population. Une façon simple est d'évaluer la distribution des intensités à travers les sujets. Le coefficient de variation, défini comme le quotient de la variance et de la moyenne, permet de capturer cette information en chaque voxel. Dans le cas des images DTI, il est possible de quantifier la cohérence de l'orientation de la direction principale entre les tenseurs en chaque voxel. Cette qualité est capturée par la cohérence dyadique (Basser and Pajevic, 2000 ; Jones et al., 2002). Pour la calculer, il faut dériver en chaque voxel le tenseur dyadique, défini comme :

$$\varepsilon_i \cdot \varepsilon_i^T \quad (2.15)$$

La cohérence dyadique est alors définie en chaque voxel comme :

$$\kappa = 1 - \sqrt{\frac{\beta_2 + \beta_3}{2\beta_1}} \quad (2.16)$$

où  $\beta_i$  sont les valeurs propres du tenseur dyadique moyen en ce voxel.

Pour des données DTI, il est aussi possible d'estimer la qualité de l'alignement sur base de résultats de tractographie. Wang *et al.* (2011) comparent le profil d'intensité le long de faisceaux obtenus par tractographie. Van Hecke *et al.* (2008) mesurent la distance entre deux fibres. Ces mesures s'appuient sur le fait que des erreurs locales de recalage sont propagées lors de la tractographie. Ainsi, une bonne correspondance des résultats de tractographie constituerait un marqueur sensible du recalage.

Finalement, notons que ces mesures peuvent être complétées par des quantifications de l'amplitude des déformations (Van Hecke et al., 2008), via le déterminant du Jacobien. L'hypothèse est que des déformations faibles ou modérées sont plus réalistes et suggèrent un meilleur alignement.

## 2.4.2 Les analyses voxel-par-voxel

Les méthodes de comparaison voxel-par-voxel sont des méthodes très populaires car elles permettent d'investiguer le cerveau dans son entièreté et de façon automatique. Les deux méthodes principales sont : Voxel-Based Analysis ou VBA (Ashburner and Friston, 2000), la méthode originale d'analyse voxel-par-voxel et Tract-Based Spatial Statistics ou TBSS (Smith et al., 2006), une méthode développée pour répondre à certaines limitations de VBA.

Les deux prochaines sections offrent une description du traitement des données spécifique à chaque méthode accompagnée d'une critique des forces et faiblesses de chacune des méthodes ainsi que d'une revue de son application chez le rongeur.

### **2.4.2.1 Voxel-Based Analysis (VBA)**

#### *2.4.2.1.1 Méthode*

VBA a originellement été développée pour comparer le volume de matière grise moyen entre deux groupes (Ashburner and Friston, 2000). Mais l'approche a rapidement été adaptée à l'analyse de cartes quantitatives telles que les cartes scalaires de diffusion (FA, AD, ...).

Le procédé est relativement simple : suite à la normalisation des images, les images sont lissées par un filtre gaussien. Ce filtrage a plusieurs objectifs : réduire les défauts de recalage résiduels, augmenter le rapport signal sur bruit (SNR) par moyennage avec les voxels voisins et augmenter la normalité des données. L'analyse est ensuite complétée par l'application des tests statistiques (section 2.4.3) sur les images ainsi traitées.

#### *2.4.2.1.2 Avantages*

Cette méthode a l'avantage de permettre d'analyser tout le cerveau sans requérir à une hypothèse sur la localisation précise des effets. Selon l'effet recherché, il est possible de limiter l'analyse à une région particulière en combinant VBA à une segmentation préalable. L'analyse peut ainsi être limitée au cortex ou à la matière blanche, par exemple.

#### *2.4.2.1.3 Critiques*

Une limitation importante de cette approche est le filtrage (Figure 2.15). En effet, il n'y a pas de façon établie de choisir la taille du filtre et il a été démontré que la taille influence directement les résultats (Jones et al., 2005). Cet effet est une conséquence directe du "Matched Filter Theorem" (Rosenfeld and Kak, 1982). Ce théorème stipule que la taille du filtre appliqué devrait être adaptée à la taille de l'effet attendu. En d'autres mots, le filtrage rend l'analyse plus sensible aux effets dont la taille est proche de celle du filtre. Cette sensibilité non-uniforme et, de plus, non-contrôlable est préjudiciable à l'interprétation de ce type d'analyse (Figure 2.15a).

Le filtrage aggrave également l'effet de volume partiel (EVP). L'EVP décrit le moyennage du signal de deux tissus différents dans un même voxel. Cet effet est inhérent à l'acquisition

d'images IRM étant donné que les dimensions du voxel sont plus grandes que les structures biologiques à l'origine du signal. Le filtrage renforce cet effet à l'échelle macroscopique de la taille des voxels et les conséquences sur les résultats peuvent être significatives (Figure 2.15b).

Finalement, de par son approche voxel-par-voxel, VBA est directement dépendante de la qualité de la normalisation spatiale. Il est évident que si les structures ne sont pas suffisamment bien alignées, le taux de faux positifs sera conséquent et la validité des résultats limitée (Bookstein, 2001).

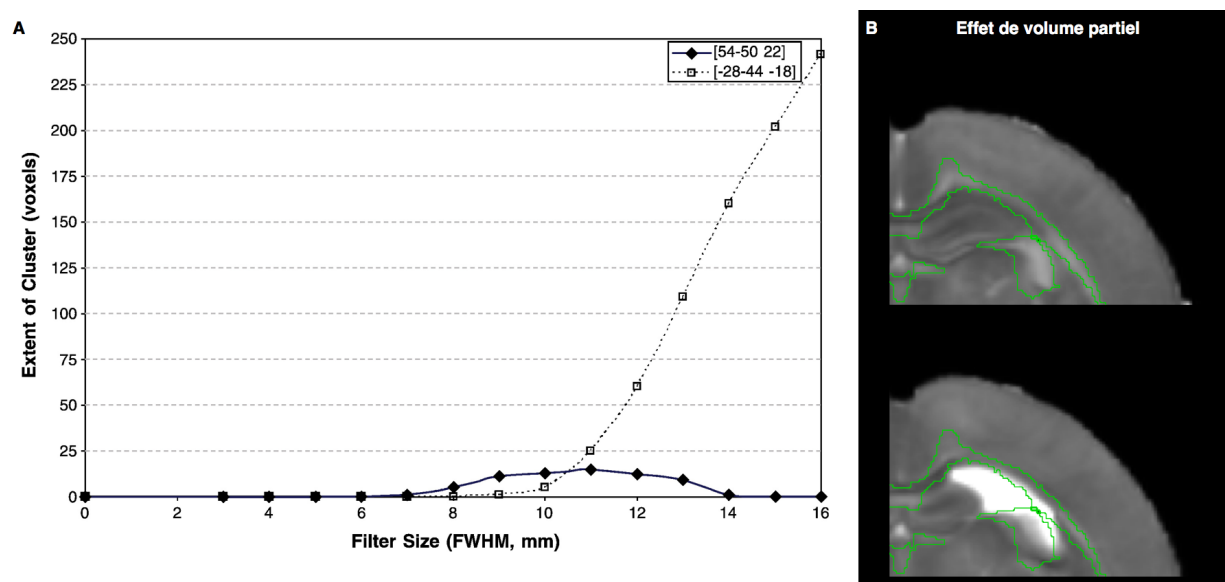


Figure 2.15. : (a) La taille du cluster détecté en fonction de la taille du filtre gaussien. Il apparaît clairement que la sensibilité dépend du choix du filtre. Tiré de Jones et al. (2005). (b) Illustration de l'effet de volume partiel (EVP). VBA et le lissage, sont limités à la zone incluse dans le tracé vert (masque de matière blanche). Pour chaque image, l'EVP aura une influence plus ou moins marquée, entraînant un biais dans les analyses statistiques.

#### 2.4.2.1.4 VBA chez le rongeur

Le tableau 2.3 présente un résumé des différentes études qui ont appliqué VBA à leurs données DTI. VBA a été appliqué à une variété de modèles animaux tant pour l'étude de la matière blanche (Li et al., 2010) que du cortex ou autres régions (Qin et al., 2013; Shu et al., 2013). Les acquisitions sont *ex vivo* ou *in vivo*. VBA est parfois appliqué en tant que méthode exploratoire (Zalsman et al., 2016) et est alors combinée à une étude par région d'intérêt *post-hoc* (cf. section 2.4.4.1). Le tableau met également en évidence la variété de méthodes de normalisation spatiale. Il



est difficile d'en tirer une tendance générale. Cependant, on peut noter que près de la moitié des études ont choisi un scan individuel comme espace référence. Seules deux études (Antonsen et al., 2013; Zerbi et al., 2013) parmi les treize reportées normalisent les données sur un template construit à partir de la population. Le modèle de transformation est limité à un recalage affiné pour 3 des études. Le contraste qui guide la normalisation diffère d'une étude à l'autre. Plusieurs études préfèrent profiter de la meilleure résolution des images anatomiques en calculant les transformations sur base des images  $T_2$  ou  $B_0$ . Notons également que la taille du filtre de lissage n'est pas reportée pour près de la moitié des études (7 sur 13) ce qui limite fortement la reproductibilité des analyses. Le lissage est parfois très étendu (jusque 20 fois la taille des voxels dans (Aharoni et al., 2013), ceci correspond à moyenner les voxels dans un voisinage de 4 mm ce qui est énorme à l'échelle d'un cerveau de rat). Du côté de l'analyse statistique, toutes les études exceptées une (Ruest et al., 2011) ont recours à des tests paramétriques (ANOVA, t-test) et seules 2 études reportent avoir recours à une procédure pour corriger les comparaisons multiples (Qin et al., 2013; Zalsman et al., 2016).

Tableau 2.3. : Application de VBA chez le rongeur et les différents paramètres de l'analyse. EAE = experimental autoimmune encephalomyelitis; HD = Huntington's disease; AD = Alzheimer's disease; SyGN = Symmetric Group-wise Normalization.

Étude	Espèce	<i>in vivo</i> <i>ex vivo</i>	Age	Objectif	Normalisation			Filtrage en voxels	Analyse Statistique			
					Cible	Trans.	Contraste		Test	Seuillage	Corr.	p-value
<b>Bar-Shir et al., 2009,</b>	Rat	<i>ex vivo</i>	P21	Manque de myéline	Scan individuel	SPM2	T <sub>2</sub>	<i>non reporté</i>	ANOVA	<i>non reporté</i>	Aucune	< 0.001
<b>Narayana et al., 2009</b>	Rat	<i>in vivo</i>	Adulte	Dépendance à la cocaïne	Atlas stéréotaxique	AIR	DWI	<i>non reporté</i>	T-test	<i>non reporté</i>	<i>non reporté</i>	< 0.05
<b>Van Camp et al., 2009</b>	Rat	<i>in vivo</i>	Adulte	Parkinson	Scan individuel	Affine	FA ou B <sub>0</sub>	<i>non reporté</i>	<i>non reporté</i>	Taille cluster minimum = 20 voxels	<i>non reporté</i>	< 0.05
<b>Li et al., 2010</b>	Souris	<i>in vivo</i>	3m	Infection prénatale	Scan individuel	<i>non reporté</i>	T <sub>2</sub>	2.38 x 2.38 x 0.85 (0.3 mm)	ANOVA	Taille cluster minimum = 50	Aucune	< 0.005
<b>Ruest et al., 2011</b>	Souris	<i>ex vivo</i>	4m	Pelizaeus–Merzbacher	Moyenne des contrôles alignés	FLIRT	FA	<i>non reporté</i>	Permutations	t > 2.31	Aucune	< 0.05
<b>Aharoni et al., 2013</b>	Souris	<i>in vivo</i>	2-3m	EAE	Template propriétaire	SPM2	B <sub>0</sub>	20 x 20 x 3 (3 mm)	ANOVA	<i>non reporté</i>	Aucune	< 0.005
<b>Antonsen et al., 2013</b>	Rat	<i>ex vivo</i>	18m	HD	Template spécifique à l'étude	<i>Van Hecke et al., 2007</i>	Composantes du tenseur	6.8 x 6.8 x 6.8 (0.6 mm)	T-test	Taille du cluster minimum = 25	Aucune	< 0.01

<b>Beloosesky et al., 2013</b>	Rat	<i>in vivo</i>	P25	Neuroprotection des infections prénatales	Scan Individuel	SPM2	MD	13.3 x 10 x 2 (2 mm)	ANOVA	<i>non reporté</i>	Aucune	< 0.001
<b>Qin et al., 2013</b>	Souris	<i>in vivo</i>	14m	AD	Scan individuel	AIR et LDDMM	B <sub>0</sub>	<i>non reporté</i>	T-test	Taille cluster minimum = 150	FDR	< 0.05
<b>Shu et al., 2013</b>	Souris	<i>in vivo</i>	14m	AD	Moyenne des images B <sub>0</sub> normalisées	Affin	B <sub>0</sub>	3 x 3 x 3	T-test	Taille cluster minimum = 10	Aucune	< 0.01
<b>Zerbi et al., 2013</b>	Souris	<i>in vivo</i>	12m	AD	Template SyGN	SyN	MD	<i>non reporté</i>	T-test	Taille cluster minimum = 4	Aucune	< 0.01
<b>Wu et al., 2016</b>	Rat	<i>in vivo</i>	2m	Schizophrénie	Template propriétaire	SPM	T <sub>2</sub>	0.87 x 0.87 x 0.4 (0.2 mm)	T-test	Taille cluster minimum = 100	Aucune	< 0.005
<b>Zalsman et al., 2016</b>	Rat	<i>in vivo</i>	Adulte	Dépression		<i>non reporté</i>		<i>non reporté</i>	T-test	Taille cluster minimum = 2	Hochberg	< 0.05

---

### 2.4.2.2 Tract-Based Spatial Statistics (TBSS)

#### 2.4.2.2.1 Méthode

Tract-Based Spatial Statistics est une approche spécifique à l'étude de la matière blanche introduite par Smith *et al.* (2006) afin de remédier aux inconvénients de VBA, i.e. le filtrage et la dépendance au recalage. Dans cette idée, les auteurs ont introduit le *squelette FA moyen* pour représenter le centre des faisceaux de matière blanche. Les étapes de traitement propres à TBSS sont les suivantes :

- Création de l'image FA moyenne en moyennant toutes les images normalisées et orientées dans le même espace.
- Sur base de la FA moyenne, le squelette FA moyen est construit. D'abord la matière blanche est segmentée en appliquant un seuil (établi empiriquement à 0.2 chez l'humain). Ensuite, celle-ci est réduite à une ligne par amincissement morphométrique en supprimant les non-maxima locaux perpendiculairement au faisceau de matière blanche (Figure 2.16a).
- Projection des voxels sur le squelette pour chaque sujet. Le voxel projeté est défini comme celui ayant la plus grande FA perpendiculairement au faisceau (Figure 2.16b). Une pondération par la distance au faisceau est également incluse dans la procédure de projection.

L'analyse TBSS est conclue par les tests statistiques (section 2.4.3) conduits voxel-par-voxel sur le squelette de matière blanche.

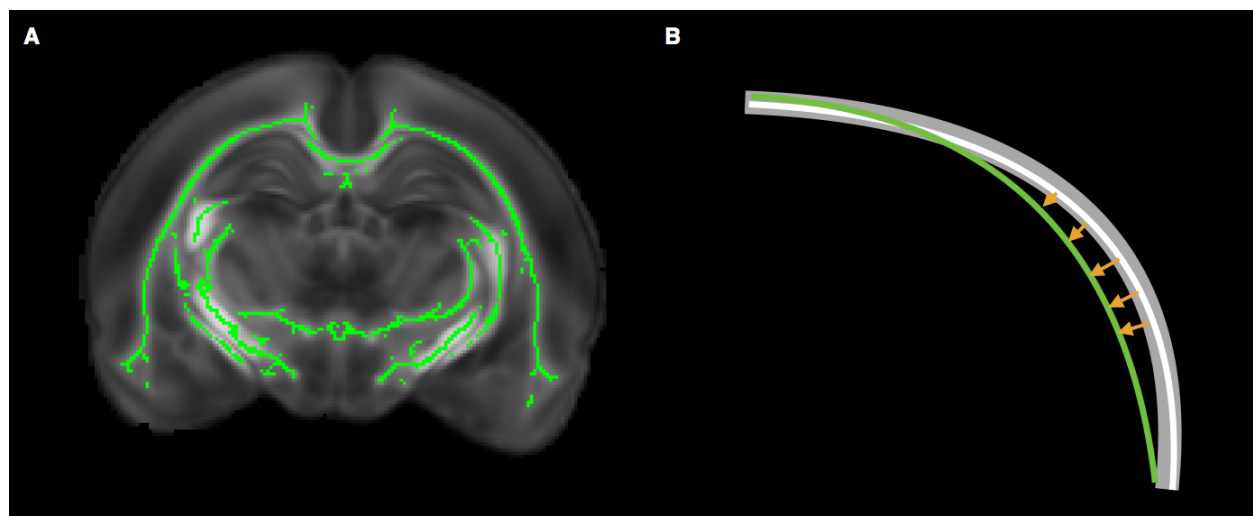


Figure 2.16. : (a) Squelette FA moyen (en vert) superposé à l'image FA moyenne. (b) Illustration de la projection. En vert le squelette FA moyen. Le gris représente le faisceau de matière blanche d'un sujet qui n'est pas parfaitement aligné avec le squelette moyen. En blanc, les voxels où la FA est maximale. En chaque point du squelette moyen, le voxel le plus proche perpendiculairement au tract avec la FA la plus élevée est projeté (flèches jaunes).

L'élégance des résultats et la facilité d'utilisation (les scripts et une documentation claire sont en libre-accès) ont permis à cette méthode d'être rapidement adoptée et appliquée à l'étude de plusieurs pathologies neurologiques telle que la schizophrénie (Liu et al., 2013; Nickl-Jockschat et al., 2012) ou la sclérose en plaques (Kern et al., 2011; Liu et al., 2012) chez l'humain.

#### 2.4.2.2.2 *Le recalage avec TBSS*

Avant de s'intéresser aux forces et faiblesses de TBSS, il est important de discuter les différentes options de recalage généralement associées à TBSS. En effet, l'article original de TBSS propose plusieurs approches pour la normalisation spatiale des données. Ils discutent en particulier le choix de la cible du recalage. Deux options sont proposées et implémentées dans la distribution de TBSS : choisir un sujet au hasard ou conduire une recherche du sujet le plus représentatif de la population. Pour la recherche du sujet le plus représentatif, tous les sujets sont recalés à tous les autres et celui pour lequel la déformation moyenne est la plus faible est considéré comme représentant le mieux la population. Chaque sujet est ensuite aligné non-linéairement à la cible choisie puis affinement transformé dans l'espace standard MNI152 (template humain construit à partir de 152 cerveaux et orienté stéréotaxiquement).

#### 2.4.2.2.3 *Avantages*

En supprimant le filtrage, le seul paramètre qu'il reste à fixer est celui du seuil de FA qui est généralement fixé à 0.2 chez l'humain. En introduisant le squelette de matière blanche, TBSS permet de se débarrasser des problèmes introduits par le filtrage (*Matched Filter Theorem* et EVP). En vertu du théorème central-limite, la projection permet de normaliser la distribution des valeurs. Un autre avantage est la réduction de l'espace des voxels pour les tests statistiques menant à une correction pour comparaisons multiples moins sévère.

#### 2.4.2.2.4 *Limitations*

Une première limitation est l'incapacité inhérente de la méthode à détecter des différences en périphérie des faisceaux de matière blanche. TBSS ne sera pas sensible à un effet si celui-ci est localisé en bordure ou simplement là où la FA n'est pas maximale. De plus, bien que la réduction de l'espace des voxels est bénéfique pour la puissance statistique, la perte d'information est d'autant plus grande que la résolution augmente. Finalement, dans le cas d'une pathologie sévère qui affecte fortement la FA, il est difficile de prévoir l'effet que la lésion aura sur la projection. Toutes les étapes du traitement reposent sur la FA (seuillage, squelette, projection) et l'effet des lésions sur TBSS peut fortement gêner l'analyse.

#### 2.4.2.2.5 *Critiques*

Le processus de traitement de TBSS (squelettisation-projection) est non-linéaire et ne peut pas être caractérisé théoriquement comme pour VBA. Pour mieux comprendre l'impact des différentes étapes de TBSS, différentes études se sont donné pour objectif d'évaluer certains aspects de TBSS chez l'humain (Bach et al., 2014 ; Edden and Jones, 2011; Tustison et al., 2014; Zalesky, 2011). Un résumé est présenté dans le tableau 2.4.

Edden & Jones (2011) se sont intéressés à la sensibilité statistique de TBSS et si celle-ci est uniforme à travers le squelette. Ils ont conclu que TBSS présentait un biais vers les structures centrales et orientées obliquement. Cette conclusion découle de deux observations : 1) la variance dans le squelette est hétérogène et est plus élevée pour les faisceaux situés en périphérie, 2) les faisceaux orientés obliquement sont plus larges dans l'espace des voxels. Pour pouvoir réaliser en quoi la deuxième observation est cruciale, il faut savoir que les méthodes de seuillage statistique (cf. section 2.4.3.2) dépendent de l'extension spatiale du cluster et sont ainsi basées sur le support des voxels voisins. Ainsi, les régions où le squelette est plus large auront tendance à passer le seuil

statistique plus aisément.

Zalesky (2011) s'est livré à évaluer quantitativement la projection et si celle-ci corrige réellement les défauts de registration comme prétendu dans l'article original de TBSS. Il s'est avéré que, au mieux, seulement 10 % des voxels étaient mieux alignés après la projection. Cependant, celle-ci améliore la correspondance en valeur de la FA pour environ 50% des voxels. L'étude établit également que la projection est non-injective et que deux voxels du squelette peuvent prendre leur valeur d'un même voxel. De plus, la continuité des voxels projetés n'est pas assurée.

L'étude de Bach *et al.* (2014) évalue chaque étape dans le déroulement d'une analyse TBSS, de l'acquisition aux tests statistiques. Premièrement, l'acquisition, et plus précisément la position relative de la matrice d'acquisition aux faisceaux de matière blanche, influe directement l'analyse TBSS. Cette relation est médiée par l'effet de volume partiel qui, selon la position de la matrice d'acquisition (et la résolution de celle-ci) relativement aux faisceaux, élargi plus ou moins le faisceau de matière blanche. L'apparence du squelette et ultimement la projection (conduite perpendiculairement au squelette) en dépendent directement. Deuxièmement, la projection peut assigner des voxels de faisceaux anatomiquement distincts dans certaines régions où des faisceaux sont adjacents. Cette observation est importante pour l'interprétabilité des résultats TBSS. Aussi, les auteurs démontrent que conceptuellement, il est impossible que la projection puisse régler les défauts de recalage lorsque ceux-ci ne sont pas dans la direction perpendiculaire au squelette. Troisièmement, plusieurs facteurs influencent la puissance statistique : le seuil de FA, le choix du template pour la normalisation spatiale et plus intuitivement, le bruit.

Tableau 2.4. : Résumé des critiques de TBSS. La première rangée résume les commentaires de la publication originale (Smith et al., 2006) pour chaque étape de TBSS.

	Squelette	Projection	Puissance statistique
<b>Smith <i>et al.</i>, 2006</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Analyse limitée au centre du tract.</li> <li>Réduit l'espace des voxels.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Réduit les défauts de recalage résiduels.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Améliorée par la réduction de l'espace des voxels.</li> </ul>
<b>Edden and Jones, 2011</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>La largeur du squelette dépend de l'orientation du faisceau.</li> <li>La variance de la FA est non-uniforme dans le squelette.</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>Non-uniforme.</li> <li>Dépend explicitement de l'orientation du faisceau par rapport à la matrice d'acquisition.</li> </ul>
<b>Zalesky, 2011</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>Meilleure correspondance de la valeur en FA pour 50% des voxels.</li> <li>Le recalage est amélioré pour moins de 10% des voxels.</li> <li>Non-injective.</li> <li>Peut rompre la continuité du squelette dans l'espace natif.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Insensible aux différences en périphérie des tracts.</li> </ul>
<b>Bach <i>et al.</i>, 2014</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Les faisceaux de matière blanche ne sont pas séparables sur base de la FA seule.</li> <li>EVP et la résolution influencent la forme du squelette (ce qui à son tour influence la direction de projection).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>La proximité de différents faisceaux n'est pas correctement gérée.</li> <li>La projection ne se fait que perpendiculairement au squelette, ce qui ne correspond pas nécessairement à la direction du mauvais alignement.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Bruit influence la sensibilité.</li> <li>Bruit influence le taux de faux positif.</li> <li>Dépend du choix de cible pour le recalage.</li> <li>Dépend du seuil de FA.</li> </ul>



#### 2.4.2.2.6 TBSS chez le rongeur

Le tableau 2.5 reprend les différentes études ayant appliqué TBSS chez le rongeur ainsi que la paramétrisation de l'analyse. Aucune de ces études n'utilise de templates construits à partir de la population et la cible est généralement limitée à un sujet individuel. Pour 5 des 8 études reprises dans le tableau, le recalage est effectué via FNIRT ou FLIRT (algorithme de recalage linéaire du module FSL). Le plus important à noter cependant est le choix du seuil de FA. Celui-ci varie d'une étude à l'autre sans jamais être justifié. Ce seuil ayant pour but de séparer au mieux les voxels de matière blanche de ceux de la matière grise, il est difficile de justifier une si forte disparité entre les études. De plus, les résultats de ces études (non-montrés) suggèrent fortement que de la matière grise est incluse dans l'analyse. Les paramètres des tests statistiques diffèrent fortement de ce qui était observé pour VBA. Toutes les études ont recours à des tests non-paramétriques et les corrections pour comparaisons multiples sont appliquées pour la quasi-entière des études.

Le tableau permet de mettre en avant la nécessité d'établir de façon robuste le choix de la stratégie de normalisation et du seuil de FA.

Tableau 2.5. : Application de TBSS chez le rongeur et les différents paramètres de l'analyse. TBI : Traumatic Brain injury; MB : matière blanche; TFCE : Threshold-free cluster enhancement; CBT : cluster-based thresholding; SPR : Sujet le plus représentatif; FDR : False Discovery Rate; FWER : Family-Wise Error Rate; CMTK : Computational Morphometry Toolkit ([nitrc.org/projects/cmtk](http://nitrc.org/projects/cmtk)).

	Espèce	<i>in vivo</i> <i>ex vivo</i>	Âge	Objectif	Normalisation			Seuil FA	Analyse statistique			
					Cible	Trans.	Autre		Perm.	Seuillage	Corr.	p-value
<b>Sierra, 2011</b>	Rat	<i>in vivo</i>	10 s	Lier TBSS et l'histologie	SPR	FNIRT		0.2	10000	CBT : $t > 2.7$	FDR à $q < 0.05$	$< 0.05$
<b>Gozzi, 2013</b>	Rat	<i>in vivo</i>	Adulte	Effets de l'alcool	Image moyenne de la population recalée au SPR	FNIRT		0.3	5000	CBT : $Z > 3.1$	FWER	$< 0.1$
<b>Hofstetter, 2013</b>	Rat	<i>in vivo</i>	4 m	Étudier la plasticité de la matière blanche dans le fornix	Sujet choisi aligné dans l'espace stéréotaxique	SPM2	Lissage 0.2 mm	0.1	5000	TFCE	Aucune	$< 0.05$ ; $< 0.01$
<b>Pfefferbaum, 2015</b>	Rat	<i>in vivo</i>	Adulte	Effets de l'alcool	Sujet choisi	CMTK		0.2	1000	TFCE	FWER	$< 0.05$
<b>Harris, 2016</b>	Rat	<i>in vivo</i>	Adulte	TBI	Image standard	FLIRT	Lissage 0.5 mm	0.26	5000	CBT	FWER	$< 0.05$
<b>Ruest, 2011</b>	Souris	<i>ex vivo</i>	4 m	Comparaison ROI, VBA et TBSS et lien avec l'histologie dans un modèle animal	Image moyenne de la population contrôle recalée à un sujet choisi	FLIRT		<i>non reporté</i>	<i>non reporté</i>	TFCE	FWER	$< 0.05$

<b>Manninen, 2013</b>	Souris	<i>ex vivo</i>	6 m	Étudier la MB dans un modèle animal d'épilepsie	SPR	FNIRT	0.2	<i>non reporté</i>	TFCE	FWER	< 0.05
<b>Manninen, 2014</b>	Souris	<i>ex vivo</i>	2,4,6 m	idem Manninen, 2013	SPR	FNIRT	<i>non reporté</i>	<i>non reporté</i>	TFCE	FWER	< 0.05

---

## 2.4.3 L'analyse statistique

### 2.4.3.1 Modélisation statistique

Suite à la normalisation et au traitement d'images de VBA ou TBSS, des statistiques entre les sujets peuvent être calculées en chaque voxel de l'espace. La façon la plus simple est de modéliser par régression linéaire chaque voxel indépendamment (modélisation univariée) dans le cadre du modèle linéaire général (Searle, 1979). La Figure 2.17 illustre le principe du modèle. En chaque voxel, les données sont un vecteur dont chaque composante représente la valeur en ce voxel pour un sujet. Une régression linéaire est conduite sur ces données à travers la matrice de design dont chaque colonne modèle un aspect des données. On peut ainsi modéliser la moyenne du groupe ou l'effet du poids. Les paramètres du modèle sont estimés à partir des données et de la matrice de design. En combinaison avec une matrice de contraste, qui indique les régresseurs à tester, une statistique est calculée sur base des paramètres du modèle. La régression produit ainsi une image par contraste dont chaque voxel contient une statistique.

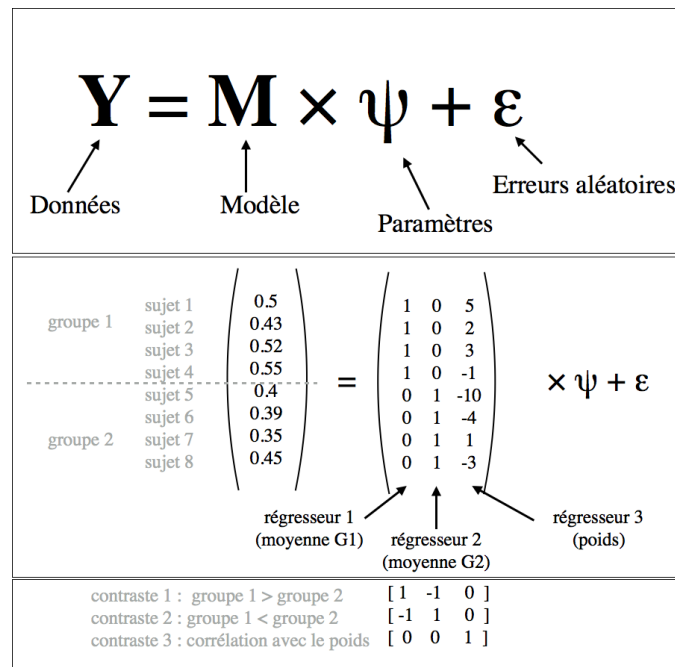


Figure 2.17. : Le modèle linéaire général. (a) Formulation du modèle (Searle, 1979). (b) Exemple numérique. (c) Différents contrastes envisageables pour les tests statistiques. Inspiré de Smith et al. (2014).

### 2.4.3.2 Seuillage

Afin de déterminer quels voxels présentent un effet et d'inférer une p-value, il est nécessaire de seuiller l'image statistique. L'approche la plus simple est d'appliquer un seuil directement sur l'image statistique et d'ensuite inférer une p-value à chaque voxel indépendamment. Ce type de seuillage voxel-par-voxel ne permet pas de prendre en compte l'information spatiale et est donc sensible au bruit. Une autre façon de procéder est de d'abord détecter dans l'image statistique les *clusters* de voxels qui franchissent un certain seuil. Il est moins probable que des voxels qui franchissent le seuil à cause du bruit soient spatialement proches. Cette méthode de seuillage par *cluster* permet un seuillage plus robuste. La p-value est ensuite dérivée sur base de la taille du cluster. Cependant, ces deux méthodes nécessitent de fixer un seuil, or il n'y a pas de réelle façon de le déterminer et les résultats sont inévitablement influencés par ce choix. Afin de permettre de se passer du choix d'un seuil, Smith et Nichols (2009) ont proposé la méthode "*Threshold-Free Cluster Enhancement*" (TFCE). Chaque voxel de l'image statistique est modifié en fonction des voxels voisins et l'intensité des voxels appartenants à un cluster est accentuée. La p-value peut ensuite se calculer voxel-par-voxel car ceux-ci contiennent maintenant aussi une information spatiale liée à l'étendue du cluster auquel ils appartiennent.

### 2.4.3.3 Tests statistiques

Il est maintenant nécessaire d'inférer des p-values afin de pouvoir tirer des conclusions sur les données. Pour ce faire, la distribution sous l'hypothèse nulle doit être connue. Un cas simple est de considérer la distribution sous l'hypothèse nulle comme étant gaussienne, la p-value peut ainsi directement être inférée dans le cadre de la théorie des champs gaussiens aléatoires (Worsley et al., 1992). Ces approches (t-test, ANOVA, ...), dites *paramétriques*, sont simples et l'inférence est immédiate. Cependant, bien que l'hypothèse de normalité soit raisonnable en imagerie fonctionnelle, ce n'est généralement pas le cas pour les données de diffusion (Smith et al., 2006). D'autres approches, *non-paramétriques*, permettent de construire la distribution de la statistique sous l'hypothèse nulle de façon empirique à partir des données. Pour ce faire, il existe entre autres les tests de permutations (Nichols and Holmes, 2002). La distribution nulle de la statistique est construite en permutant de façon aléatoire l'ordre des sujets de telle sorte que tout effet potentiel disparaît et ainsi pour chaque permutation une statistique sous l'hypothèse nulle est obtenue. Sur des milliers de permutations, il est ainsi possible de construire la distribution nulle de la statistique.

Finalement, la statistique calculée à partir des données non-permutées (données réelles) est comparée à la distribution nulle et une p-value est inférée. L'inconvénient majeur de ce type de tests est qu'il requiert de lourds et longs calculs.

#### 2.4.3.4 Correction pour les comparaisons multiples

Le dernier aspect dans l'inférence statistique est la correction de la p-value pour les millions de tests statistiques effectués. Pour un seuil statistique  $p < 0.05$ , une image de 5.000.000 de voxels contiendra 250.000 voxels considérés comme significatifs par pur hasard. Une première façon de contrôler le taux de faux positifs dans l'image (et non à chaque voxel séparément) est de corriger la p-value en la divisant par le nombre de tests statistiques réalisés (Correction de Bonferroni). Cette approche est cependant très conservatrice et pour de très grands jeux de données, tout effet risque d'être perdu. Les tests de permutation offrent une autre solution. Au lieu de construire la distribution nulle en chaque voxel séparément, une distribution nulle "globale" de la statistique maximale parmi tous les voxels de l'image est construite. En testant la statistique de chaque voxel à cette distribution, le taux d'erreur sur l'image (*family wise error rate* ou FWER) est contrôlé.

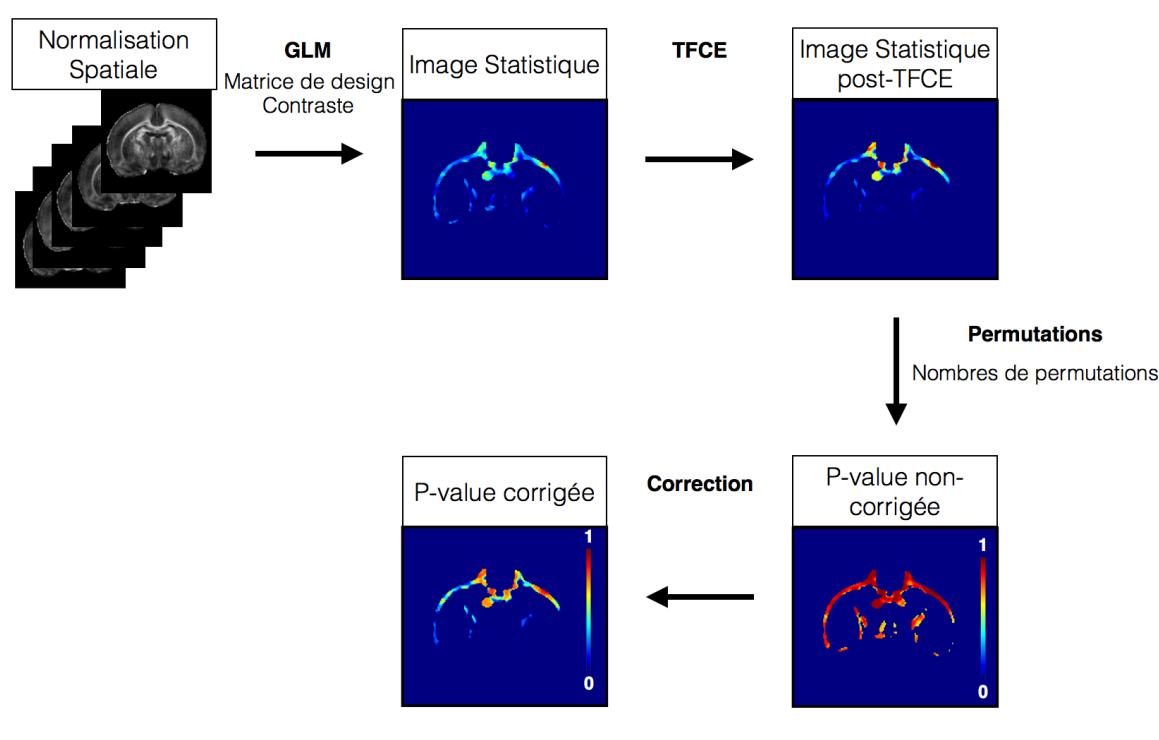


Figure 2.18. : Exemple de pipeline d'une analyse statistique. À chaque étape, l'opération est définie en gras et les paramètres utilisateurs sont repris en-dessous. GLM : de l'anglais, General Linear Model.

Afin de mettre en perspective ce qui a été présenté dans les trois dernières sections (2.4.1-2.4.3), le lecteur est invité à consulter la figure 2.8 présentée au début de la section 2.4.

#### 2.4.4 Autres techniques d'analyse des données DTI

VBA et TBSS ne sont pas les uniques options pour l'analyse des données du tenseur de diffusion (Figure 2.19). D'autres techniques permettent de conduire des analyses de groupe et sont présentées ci-après.

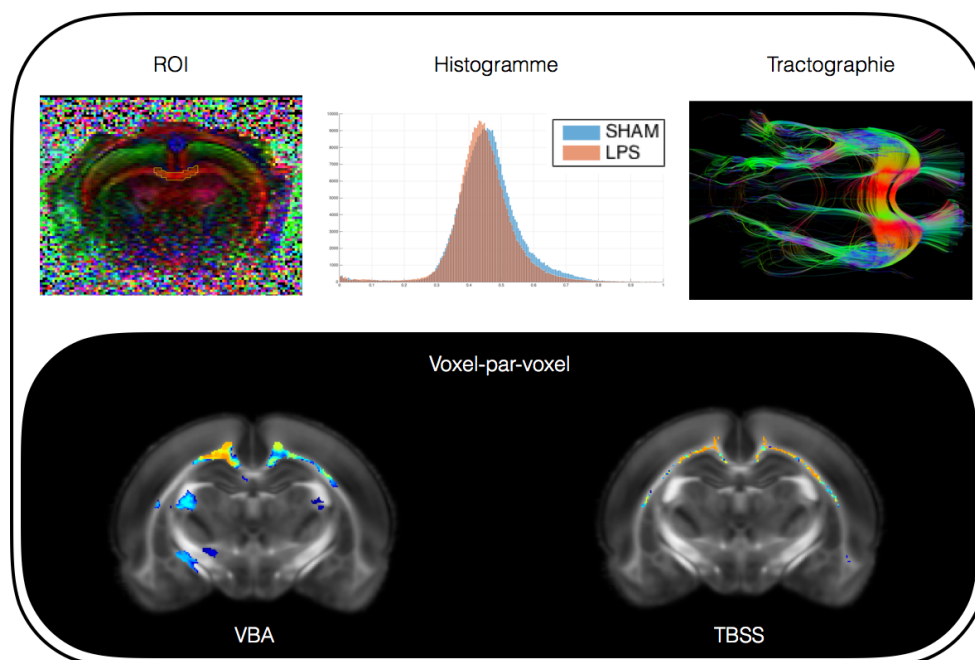


Tableau 2.6. : Les différentes méthodes d'analyse des données DTI et leurs caractéristiques. X=Faux ; V=Vrai.

Méthode	Automatique	Globale	Information spatiale
ROI	X	X	V
Histogramme	V	V	X
Tractographie	Semi	X (faisceau spécifique)	V
VBA	V	V	V
TBSS	V	V (matière blanche uniquement)	V

#### 2.4.4.1 L'analyse par régions d'intérêt (ROI)

Une façon simple d'analyser les cartes de diffusion est de tracer sur les images des ROI sur une zone anatomique précise et de comparer la valeur moyenne dans la ROI entre les différents groupes. Cette méthode permet de conduire une analyse très sensible aux petits changements dans des zones anatomiques bien définies. Ce procédé peut être très efficace lorsque les hypothèses sur les zones affectées sont bien établies. Toutefois, le caractère manuel de l'approche en fait une technique très consommatrice en temps de telle sorte que pour de grandes populations, elle n'est pas envisageable. De plus, sa reproductibilité est limitée par la variabilité inter- et intra-opérateur.

En DTI, il est important de bien choisir le contraste qui guide le tracé. Par exemple, l'image FA seule ne permet pas de délimiter le cingulum de la capsule externe et il est nécessaire de compléter avec une image RGB, par exemple.

La taille de la ROI est aussi un paramètre important. Une grande ROI permet de réduire la variance mais il y a un risque que l'effet disparaisse dans la moyenne. En outre, plus la ROI est grande, plus l'effet de volume partiel risque d'être important. Il est conseillé de conserver la même taille pour différents sujets, cependant certaines déformations pathologiques ou simplement la variabilité anatomique peuvent rendre la délimitation d'une même région anatomique avec une ROI de taille fixe difficile. On risque alors d'avoir certaines ROI englobant une région voisine. Par contre, si on permet la variation de la taille de la ROI, l'effet de la moyenne et du volume partiel ne sera pas identique partout.

Si plusieurs ROI sont tracées, ce qui est généralement le cas, il est nécessaire de corriger les tests statistiques pour les comparaisons multiples au risque d'augmenter la probabilité des erreurs de type I. Une méthode simple est la correction de Bonferroni pour laquelle chaque *p-value* est



divisée par le nombre total de ROI. Pour un nombre élevé de ROI, cette correction devient très conservatrice et tout effet peut alors être perdu.

#### **2.4.4.2 L'analyse d'histogrammes**

Les histogrammes résument le contenu de l'image en attribuant à chaque intervalle de valeurs un nombre égal au total de voxels ayant une intensité comprise dans cet intervalle. On peut ensuite extraire des caractéristiques de l'histogramme et comparer celles-ci entre les deux groupes (Cercignani et al., 2000; Yu et al., 2008). Les différentes caractéristiques peuvent être par exemple : position du mode (pic de l'histogramme), hauteur du mode, valeur moyenne, un percentile (25ème, 75ème,...), etc. Ce type d'analyse est particulièrement pratique pour les lésions diffuses mais n'est pas sensible aux lésions focales. De plus, toute information spatiale est perdue.

Généralement, l'analyse par histogrammes est combinée à une segmentation afin de concentrer l'analyse à un certain type de tissu (par exemple, matière blanche) ou pour soustraire la contribution d'un tissu indésirable (par exemple, liquide cérébro-spinal).

#### **2.4.4.3 Tractographie**

La tractographie est une technique qui permet d'estimer les trajectoires des faisceaux de matière blanche sur base de l'orientation des tenseurs de diffusion. La tractographie est basée sur la supposition que la direction des fibres de matière blanche est parallèle à celle de la direction principale du tenseur. Il existe divers algorithmes permettant de réaliser la tractographie, le lecteur est référé à Mukherjee *et al.* (2008) et Yamada *et al.* (2009) pour une revue des différents algorithmes de tractographie et leurs applications.

Sur base du résultat de la tractographie, il est possible de compiler, sous forme de moyenne ou autre statistique, la valeur des paramètres (FA, AD, ...) le long d'un faisceau spécifique (Jones et al., 2006; Price et al., 2008) et de conduire la comparaison sur base de celles-ci. Il est aussi possible de paramétrer la courbe définie par le faisceau de matière blanche et de faire une comparaison statistique basée sur cette paramétrisation (Corouge et al., 2006). D'autres méthodes, comparent des caractéristiques du faisceau même (forme, épaisseur) en combinaison avec les paramètres de diffusion (Yushkevich et al., 2008; Zhang et al., 2010).

## 2.5 La spectroscopie par résonance magnétique

### 2.5.1 Principes de base

En plus de la RMN, le concept fondamental derrière la spectroscopie par résonance magnétique est le déplacement chimique. Lorsqu'un tissu non-homogène est plongé dans un champ magnétique uniforme, chaque proton ne ressent pas exactement le même champ mais plutôt une combinaison du champ appliqué et de champs locaux. Ces champs locaux, dus aux nuages électroniques, sont caractéristiques de la molécule à laquelle appartient le proton et la fréquence de précession des protons dépend donc directement de l'environnement moléculaire. C'est le déplacement chimique (Figure 2.20a). Sur base de ce mécanisme, il est possible de reconstruire des spectres qui représentent l'amplitude du signal en fonction de la fréquence. L'amplitude du signal est directement liée à l'abondance des protons et il est possible d'extraire une mesure quantitative de la concentration des espèces en présence. Un exemple de spectre obtenu *in vivo* dans un cerveau de raton à 4 jours d'âge est présenté à la figure 2.20b.

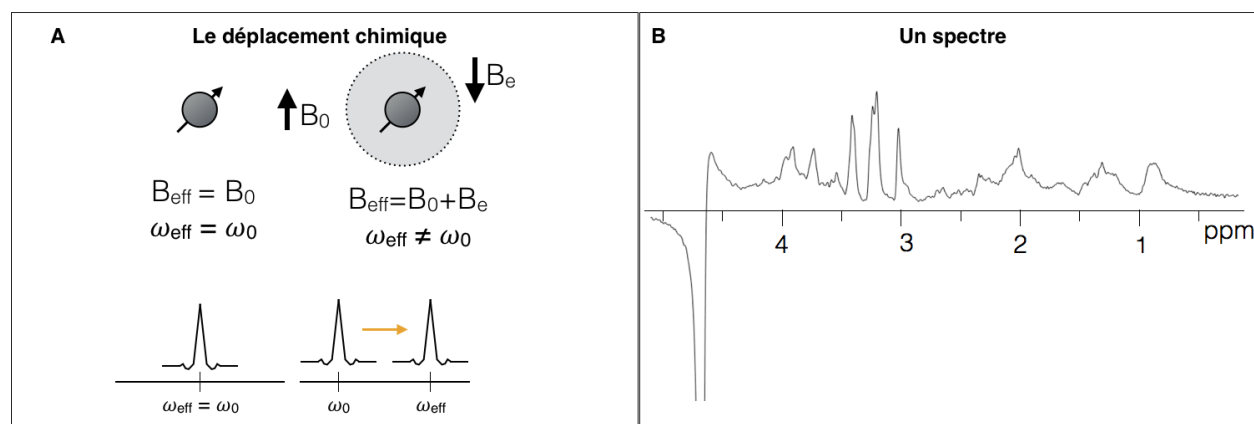


Figure 2.20. : (a) Illustration du déplacement chimique. (b) Un spectre acquis dans l'hippocampe *in vivo* lors d'une expérience de spectroscopie chez un raton âgé de 4 jours ayant reçu une injection de LPS et un traitement neuroprotecteur à l'IL1-Ra. Le SNR, calculé comme le ratio du maximum du spectre et du double de la moyenne quadratique des résidus (tels que calculé par LCModel), est de 15 et la largeur à mi-hauteur est de 0.02 ppm. ppm : parts per million.

### 2.5.2 Acquisition

En spectroscopie, les mécanismes de relaxation ( $T_1$ ,  $T_2$ ,  $T_2^*$ , ...) affectent également l'allure

du spectre. Cependant, chaque proton, selon la molécule à laquelle il est lié, a des propriétés propres et l'effet d'un paramètre d'acquisition sur l'allure du spectre est complexe. Des spectres totalement différents peuvent être acquis dans une même région avec des séquences différentes. De plus, l'absence de référence anatomique (comme c'est le cas en imagerie où les intensités peuvent être comparées entre les différentes régions anatomiques) rend la comparaison de spectres de séquences différentes difficile.

Le paramètre le plus important est le temps d'écho. Pour un temps d'écho long (60-200 ms), la plupart des protons qui se relaxent vite ne participent plus au signal et seulement quelques pics (NAA, choline, créatine) demeurent facilement identifiables. Les séquences ayant un TE long sont moins sensibles aux artéfacts et la ligne de base est plus plate. Pour un temps d'écho court, les métabolites qui se relaxent rapidement restent quantifiables et les lipides et macromolécules deviennent identifiables. Les séquences à temps d'écho court permettent d'établir le profil neurochimique plus précisément. De plus, l'intensité du signal est plus grande et le SNR est donc meilleur (Pfeuffer et al., 1999).

Pour la spectroscopie dans un seul volume d'intérêt (VOI), en anglais *single-voxel spectroscopy*, les séquences d'acquisition permettent d'exciter le VOI tout en évitant la contamination du signal par les tissus extérieurs et le signal prédominant de l'eau. Les séquences de localisation spatiales de base sont *Image Selected In vivo Spectroscopy* ou ISIS (Ordidge et al., 1986), *Point Resolved Spectroscopy* ou PRESS (Bottomley, 1987), et *Stimulated Echo Acquisition Mode* ou STEAM (Frahm et al., 1987). On peut également citer *Localisation by Adiabatic Selective Refocusing* ou LASER (Slotboom and Bovee, 1995) et *Spin-Echo Full Intensity Acquired Localized Spectroscopy* ou SPECIAL (Mlynarik et al., 2006).

L'eau constitue environ 80 % du poids total du cerveau et son signal domine le spectre. Afin de permettre une estimation plus robuste des autres espèces en présence, il est nécessaire de supprimer le signal de l'eau à l'aide de séquences appropriées. Ceci peut être fait via des impulsions visant des fréquences spécifiques ou en exploitant les propriétés de relaxation de l'eau.

Un dernier point important dans l'acquisition de spectres est l'influence du champ magnétique. L'augmentation du champ magnétique permet d'améliorer la sensibilité et pour un même SNR, le temps d'acquisition à plus haut champ est plus court. De plus, la résolution spectrale s'affine avec l'intensité du champ et permet ainsi une meilleure distinction de la contribution de métabolites qui ont des résonances proches. Cependant, il est important de s'assurer que le champ

est homogène dans l'échantillon. L'inhomogénéité peut avoir des conséquences sévères sur la qualité des spectres car elle accroît les susceptibilités magnétiques. Il est alors nécessaire de *shimmer* le champ magnétique, à l'aide de gradients spécifiques, pour homogénéiser le champ dans le volume d'intérêt. Le *shim* peut se faire manuellement ou automatiquement à l'aide de séquences spécifiques comme FASTMAP (Gruetter, 1993). La figure 2.21 présente un spectre et différents métabolites y sont identifiés.

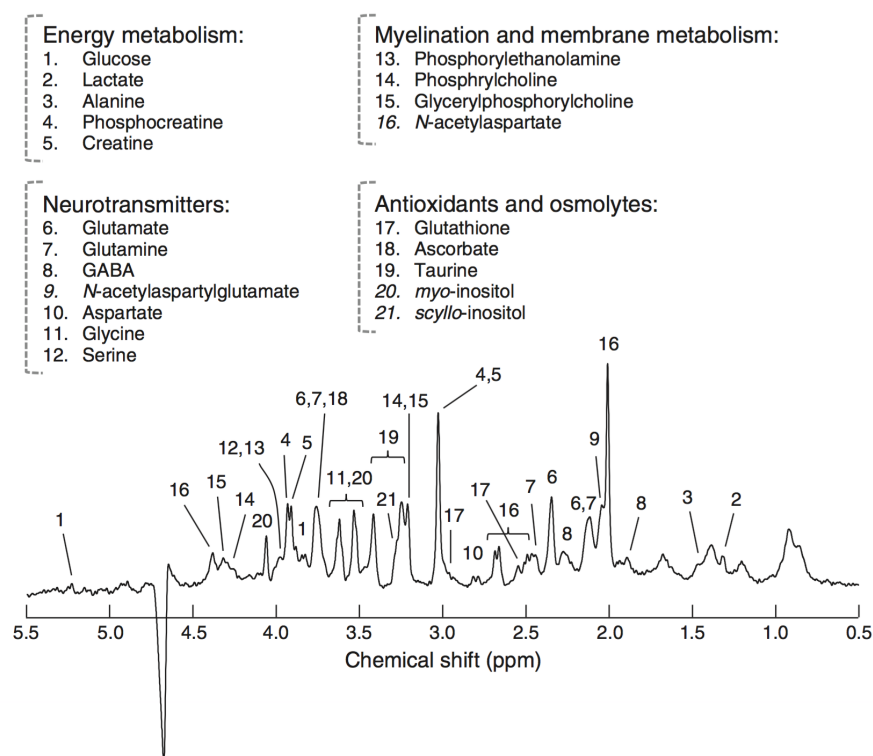


Figure 2.21. : Un spectre acquis dans l'hippocampe de rat à 14.1 T avec la séquence SPECIAL. Les différents composants mesurables et leur rôle sont indiqués. Tiré de Duarte et al., 2012.

## 2.5.3 Traitement des données

Afin de permettre d'extraire les concentrations de métabolites de façon robuste, les données de spectroscopie doivent être traitées pour corriger les artefacts d'acquisition et pour les préparer à l'analyse. Les méthodes présentées ci-dessous sont une sélection des différentes procédures qu'il est possible d'appliquer.

### 2.5.3.1 Les données brutes de spectroscopie

Les données de spectroscopie sont acquises par échantillonnage du FID dans le domaine

temporel. Ce signal est ensuite transformé dans le domaine fréquentiel en spectre par la transformée de Fourier. Les données comportent donc une partie réelle et imaginaire. La partie réelle du spectre est désignée comme le spectre d'absorption et la partie imaginaire comme le spectre de dispersion.

### 2.5.3.2 Correction de la phase

Les méthodes de quantification s'intéressent au spectre d'absorption. Ainsi, afin de le maximiser, il est nécessaire de corriger la phase. La correction se fait à deux niveaux. Une correction de phase d'ordre zéro qui est indépendante de la fréquence et une correction de premier ordre qui varie avec la fréquence. En ajustant ces deux paramètres, il est possible de corriger la phase en chaque point du spectre. Cette correction peut se faire manuellement, en ajustant la phase de telle sorte que le pic pointe vers le haut (Figure 2.22), ou automatiquement à l'aide de méthodes telles que *Automated phase Correction based on Minimization of Entropy* ou ACME (Chen et al., 2002).

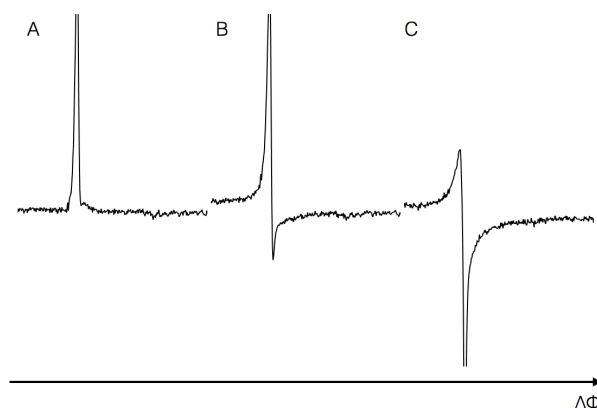


Figure 2.22. : Spectres avec différentes phases. De gauche à droite le terme imaginaire est de plus en plus important, et le spectre est de plus en plus dispersif. La correction a pour but d'obtenir l'image en A pour laquelle l'aire sous le pic du spectre d'absorption est maximale. Ici, seul le terme de correction d'ordre zéro varie.

### 2.5.3.3 Correction des dérives de la phase et de la fréquence

Généralement, dans le but d'augmenter le SNR par moyennage, plusieurs spectres d'une même VOI sont acquis. Afin de regrouper les différentes acquisitions, il est nécessaire de s'assurer que les spectres sont correctement alignés au risque de perdre en résolution. En effet, le champ magnétique dérive au cours du temps et les fréquences de résonance varient entre les acquisitions.

Aussi le mouvement cause des erreurs dans la phase et la fréquence. La correction peut se faire en estimant les erreurs de phase et de fréquence de chaque scan via le signal d'eau non-supprimé (ou résiduel). Une autre approche, proposée par Near *et al.*, (2014), est d'estimer la correction en alignant chaque scan au premier de la série en ajustant la fréquence et la phase.

#### **2.5.3.4 Modifications dans le domaine temporel**

Le FID mesuré peut être modifié afin d'améliorer la qualité du spectre. Entre autres, la résolution apparente peut être améliorée en ajoutant des zéros à la fin du FID. Aussi, il arrive que les premiers points digitalisés le soient en absence de tout signal. Le FID peut alors être circulairement déplacé dans le domaine temporel pour que les premiers points correspondent au début du FID.

#### **2.5.3.5 Corrections des courants de Foucault**

Comme en IRM, les courants de Foucault sont causés par les gradients de champ magnétique intermittents et provoquent des distorsions de la forme des pics de résonance (Klose, 1990). La correction peut se faire en prenant en compte l'information de phase de scans références (généralement un spectre acquis sans suppression du signal de l'eau).

#### **2.5.3.6 Estimation de la ligne de base**

Une estimation correcte de la ligne de base est importante pour une quantification robuste des concentrations métaboliques. La ligne de base est un spectre large et gondolé superposé au pics des autres métabolites. La ligne de base a un temps de relaxation très court et est plus ou moins plate dans les spectres acquis avec un TE long. Cependant, pour un TE court, le signal des macromolécules et lipides qui constitue la ligne de base n'est pas encore relaxé et les spectres présentent de fortes distorsions. Les méthodes d'estimation de la ligne de base reposent soit sur des acquisitions supplémentaires soit sur des estimations numériques.

### **2.5.4 Quantification**

La quantification des concentrations des métabolites est basée sur l'estimation de l'aire sous les pics du spectre d'absorption. Plusieurs étapes mènent à la quantification. La première étape est la décomposition du spectre. Celle-ci permet d'établir la concentration relative de chaque métabolite. Le spectre est reconstruit à partir d'un modèle qui contient de l'information sur l'allure

de spectres individuels de métabolites et de la ligne de base. Cette information a priori peut être sous la forme d'un ensemble de données expérimentales (LCModel dans Provencher, 1993), de spectres simulés (QUEST dans Ratiney et al., 2005) ou simplement de fonctions phénoménologiques (AMARES dans Vanhamme et al., 1997). La deuxième étape permet de rendre le signal proportionnel à la concentration. Il existe deux façons de faire : par référence interne ou par référence externe. Le référencement interne se fait en normalisant chaque pic à celui d'un autre métabolite, généralement celui de la créatine. Cependant, cette concentration n'est pas toujours stable (Duarte et al., 2009; Mukherjee et al., 2000). On peut alors aussi se référer au pic d'eau via un scan sans suppression du signal de l'eau. Le référencement externe normalise les données par rapport à des expériences de spectroscopie *in vitro* sur des échantillons de concentration connue.

Plusieurs logiciels d'analyse des spectres de spectroscopie existent. Parmi les plus populaires, on peut citer LCModel et jMRUI. LCModel est un logiciel d'analyse opérateur-indépendant qui permet de traiter et quantifier les spectres. jMRUI est un logiciel avec interface graphique qui propose divers outils pour le traitement des spectres et implémente plusieurs techniques différentes (QUEST, AMARES,...). La section suivante se concentre sur LCModel.

#### 2.5.4.1 LCModel

Le *Linear Combination Model* ou LCModel (Provencher, 1993) est un programme qui permet de quantifier la concentration de métabolites à partir de spectres de MRS ( $^1\text{H}$ ). Comme décrit précédemment, LCModel reconstruit le spectre à partir de données expérimentales de spectres acquis *in vitro*. La figure 2.23 illustre le concept. En plus des spectres d'un ensemble de base (*basis set*), LCModel estime la ligne de base et l'intègre dans le modèle. LCModel inclut également différentes options de traitement du signal comme la correction des courants de Foucault et la correction de la phase. Pour LCModel, la concentration absolue peut être déduite soit en calibrant le logiciel via des fantômes dont la concentration en métabolite est connue soit par référencement au spectre du signal de l'eau et une estimation du contenu en eau.

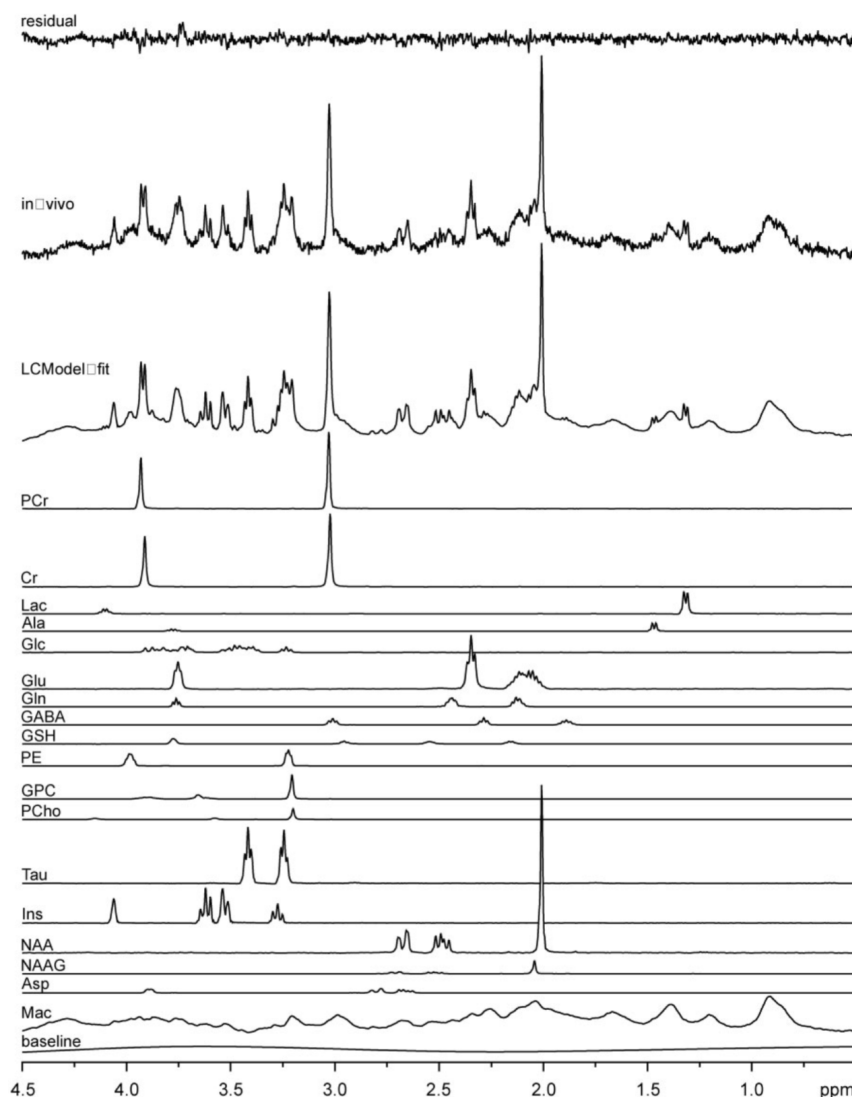


Figure 2.23. : Reconstruction du signal mesuré par LCModel en combinant différents spectres de métabolites seuls. Tiré de Tkáč et al., 2003.

LCModel est entièrement automatique et ne requiert pas d'intervention de l'utilisateur. La paramétrisation de l'analyse LCModel se fait au travers d'un *control file* qui reprend toutes les informations nécessaires au traitement du spectre et à la quantification. Le tableau 2.6 reprend quelques variables importantes dans la paramétrisation de l'analyse. Un exemple de *control file* optimisé pour l'analyse de spectres acquis *in vivo* chez des rats à P4 est donné dans l'annexe E.



Tableau 2.7. : Les paramètres d'une analyse LCModel.

Paramètres	Type	Définition
<b>Acquisition et Instrumentation</b>		
HZPPM	Numérique	Fréquence de précession des $^1\text{H}$ ( $=42.58 \cdot B_0$ )
NUNFIL	Numérique	Nombre de points d'échantillonnage du FID
DELTAT	Numérique	Durée entre 2 points d'échantillonnage (inverse de la bande passante)
<b>Traitement</b>		
DOECC	Booléen	Correction des courants de Foucault
DOWS	Booléen	Quantification par rapport au signal de l'eau
DEGZER-DEGPPM-SDDEGZ-SDDEGP	Numérique	Information a priori pour la correction de phase
<b>Analyse</b>		
PPMST - PPMEND	Numérique	Début et fin de la fenêtre d'analyse (en ppm)
DOREFS	Booléen	Référencer les concentrations au pic de Cr
WCONC	Numérique	Contenu en eau de l'échantillon
SPTYPE	Texte	Précise le type de spectre (muscle, graisse, tumeur,...)

Chacun de ces paramètres doit être correctement défini au risque de faire échouer l'analyse ou d'obtenir des résultats sous-optimaux. En particulier *WCONC* affecte directement la quantification et doit être fixé prudemment si les résultats doivent être comparés à d'autres études de spectroscopie.

En plus de ces paramètres, il est nécessaire de définir l'ensemble des métabolites à considérer dans la procédure de combinaisons linéaires. En plus de métabolites seuls, il est également possible de choisir des combinaisons de plusieurs métabolites dont la fréquence de résonance est proche et dont le signal se chevauche. Cela permet de rendre la quantification plus robuste bien qu'il devient alors impossible de distinguer la part d'un métabolite de l'autre. La figure 2.24 montre le résultat d'une analyse LCModel. Dans l'encadré C de cette figure, une colonne est intitulée «%SD». Celle-ci reporte la déviation standard en pourcentage de la concentration estimée (*Cramér-Rao lower bounds* ou CRLB). L'intervalle de confiance à 95% est alors donné par cette valeur multipliée par 2. Exemple : concentration = 3  $\mu\text{mol/g}$ , CRLB = 10%. L'intervalle de confiance est alors de taille  $2 \cdot 0.1 \cdot 3 = 0.6$  et est  $[3-0.3, 3+0.3] = [2.7, 3.3]$   $\mu\text{mol/g}$ .

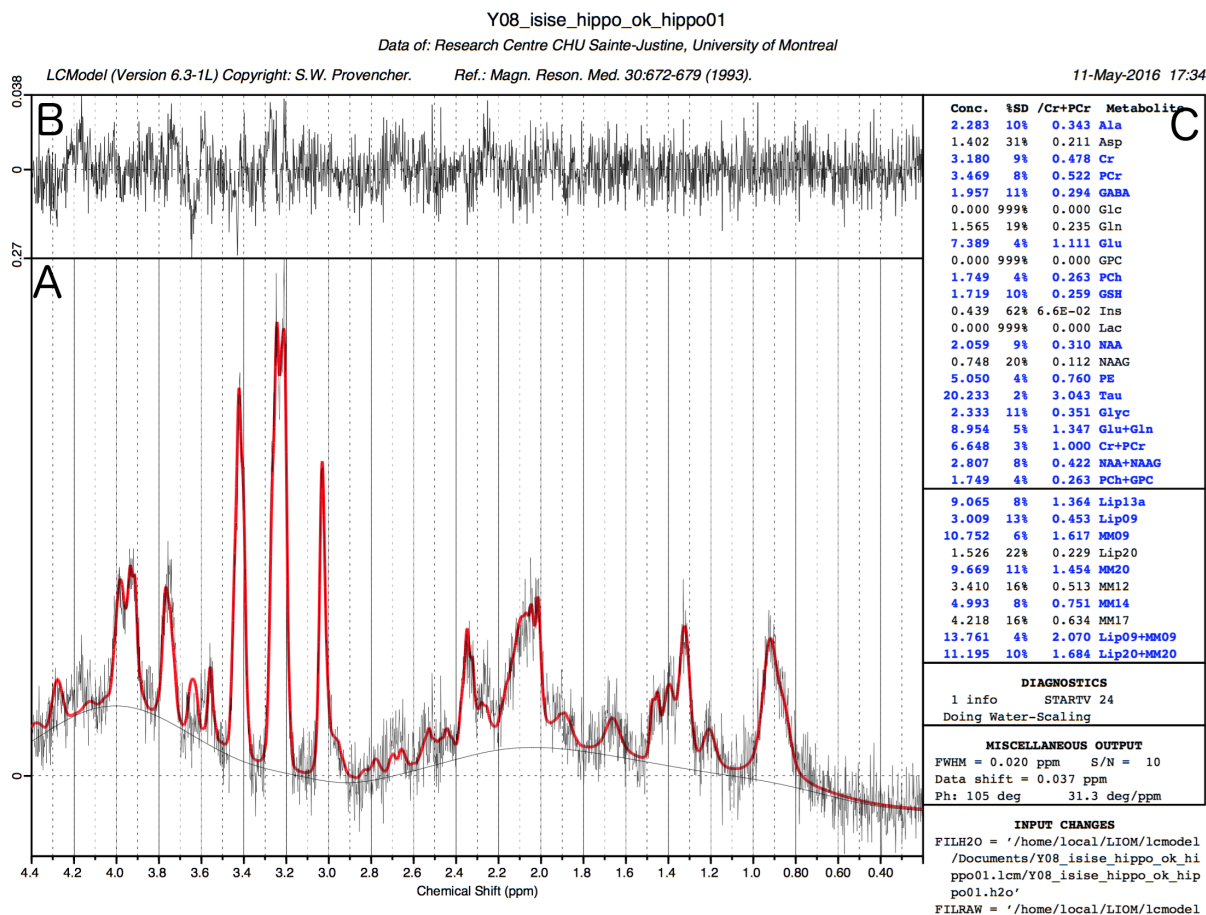


Figure 2.24. : Résultat d'une analyse LCMModel. (a) Spectre original et spectre reconstruit par LCMModel (en rouge). La ligne de base estimée par LCMModel est également représentée. (b) Résidus de la reconstruction. (c) Concentrations des différents métabolites, la déviation standard exprimée en pourcent de la concentration estimée et concentration relativement à la créatine totale (Cr+PCr). D'autres données sur le spectre telles que la résolution et le signal-sur-bruit sont également reportées.

## CHAPITRE 3 ORGANISATION DU MÉMOIRE

Ce mémoire s'insère dans un projet plus large ayant pour but de caractériser et de déterminer des biomarqueurs des lésions de la matière blanche observées chez le prématuré. Ici en particulier, les technologies de résonance magnétique (DTI/MRS) sont étudiées.

Les données sur lesquelles le projet s'est axé sont présentées à la première section. La seconde section décrit l'agencement des différentes parties du mémoire.

### 3.1 Matériel

Le projet s'est articulé autour de deux jeux de données : 1) Des données de DTI acquises *ex vivo* chez des rats à P24, ce qui correspond à peu près un âge humain de 1 an (Hagberg, 1997). 2) Des données de DTI et MRS acquises *in vivo* chez des rats à P4, âge équivalent au nouveau-né à terme humain (Lodygensky, 2008).

Les données *ex vivo* ont été acquises sur des rats divisés en 2 groupes : LPS (n=12) et sham (n=12). Le premier groupe a reçu une injection stéréotactique de LPS dans le corps calleux gauche à P3. Le deuxième groupe reçoit une injection d'un volume équivalent de solution saline. Ces données permettent de quantifier l'effet de la lésion à un stade développemental avancé entre le groupe sain (sham) et le groupe lésé (LPS). Les données étant *ex vivo*, de longues acquisitions sont possibles et la DTI a pu être acquise à haute résolution ( $73 \times 109 \times 300 \mu\text{m}^3$ ). Le protocole d'acquisition de ces données est décrit au chapitre 5 et n'est pas repris ici.

Les rats utilisés pour les données *in vivo* sont distribués en 3 groupes différents : sham (n=9), LPS (n=8), et LPS+IL1-Ra (n=6). L'IL1-Ra a été administré par voie intra-péritonéale trois fois entre l'injection de LPS à P3 et l'acquisition à P4. La DTI a été acquise à une résolution plus grossière que les données *ex vivo* ( $117 \times 234 \times 600 \mu\text{m}^3$ ). Les données de spectroscopie ont été acquises dans le corps calleux et l'hippocampe ipsilatéral à l'injection. Le protocole d'acquisition est repris à l'annexe D afin d'alléger le texte. Ces données permettent d'étudier si les lésions sont détectables en phase aiguë de l'inflammation par les technologies de résonance magnétique et si la quantification peut être corrélée à la sévérité de la lésion. Parallèlement, l'effet neuroprotecteur de l'IL1-Ra dans le cadre de ce modèle animal peut être évalué. La figure 3.1 récapitule les protocoles et la figure 3.2 montre une mosaïque des données de diffusion *in vivo* et *ex vivo*.

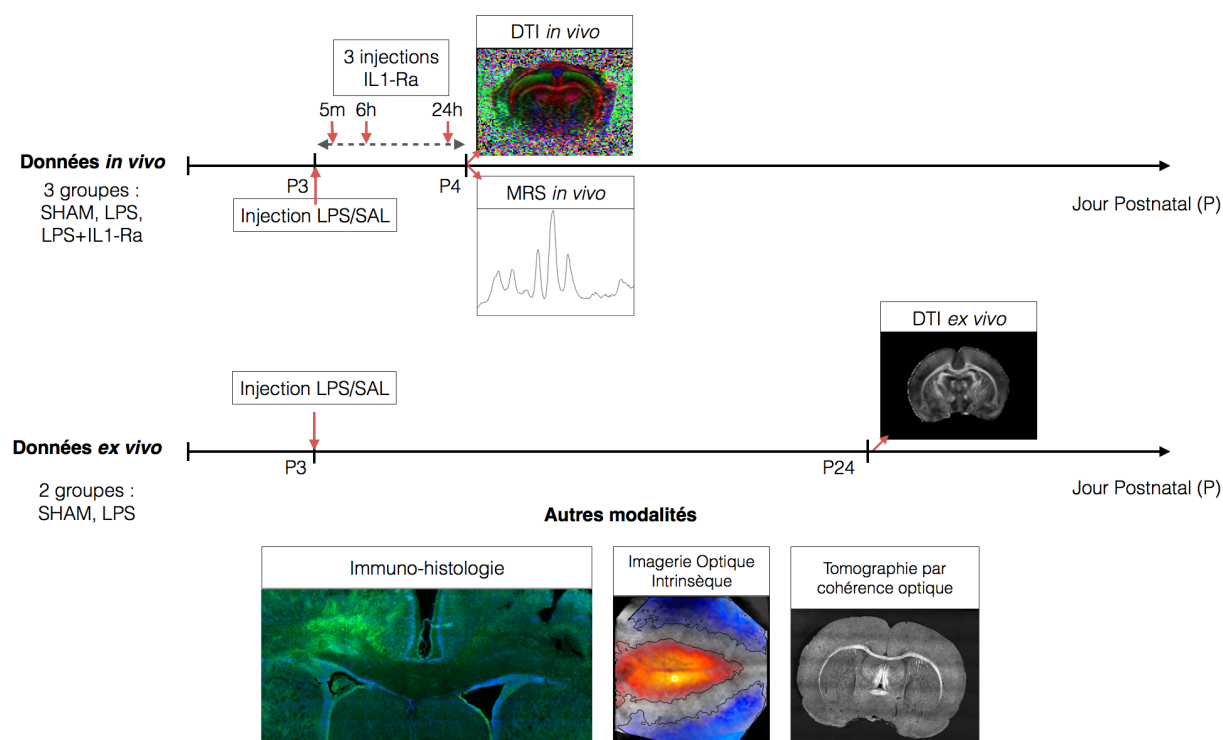


Figure 3.1. : Protocoles de l'acquisition des deux jeux de données à l'étude dans ce mémoire. D'autres modalités d'imagerie ont également été appliquées : l'immuno-histologie, l'imagerie optique intrinsèque et la tomographie par cohérence optique. Les images ont été fournies par Wiston C. Pierre, Edgar Guevara et Alexandre Castonguay, respectivement.

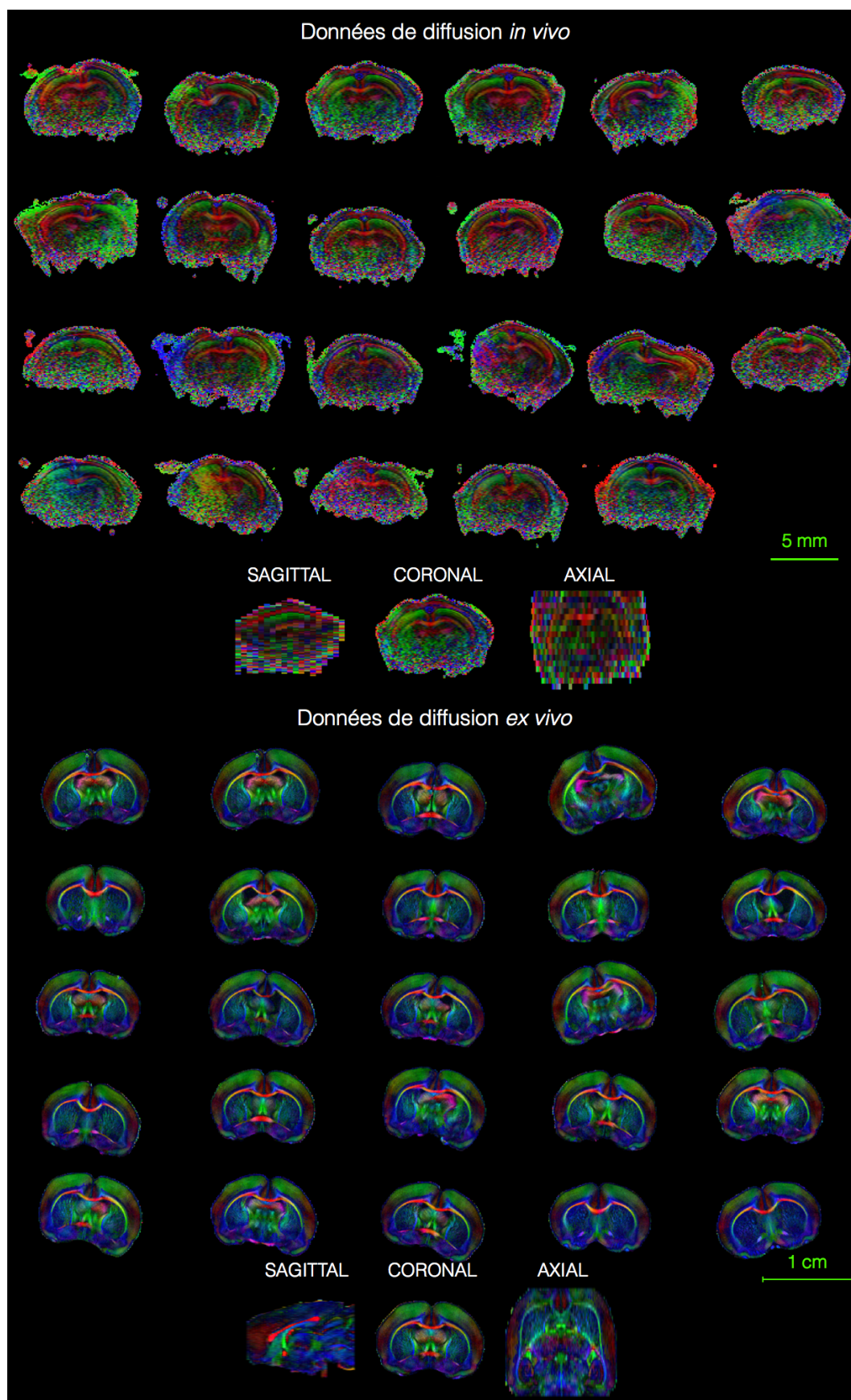


Figure 3.2. : Mosaïques des populations constituant les données DTI in vivo et ex vivo. Pour chaque ensemble, la mosaïque est constituée d'une coupe coronale unique pour chaque animal. La dernière rangée présente les trois coupes orthogonales d'un seul animal.

## 3.2 Démarche et organisation du mémoire

L'un des objectifs de ce mémoire était de mettre à disposition divers outils validés pour l'analyse des données de résonance magnétique chez le raton. Tous les modules développés pour l'analyse des données de MRS et de DTI, du recalage aux analyses voxel-par-voxel, sont présentés au chapitre 4. Les chapitre 5 à 7 font usage de ces modules afin de les comparer mutuellement (chapitre 5) et de les appliquer à l'analyse des données présentées ci-dessus (chapitre 6 et 7).

### 3.2.1 Objectif O1.1 : "L'optimisation et l'automatisation de l'analyse de données DTI *ex vivo* et *in vivo*"

L'automatisation permet théoriquement d'améliorer la reproductibilité. Cependant, la revue de littérature a permis de mettre en avant la grande variété de choix qui se présentent à l'utilisateur : modèle de recalage, cible pour la normalisation, seuil FA, test statistique, etc. L'arbitrarité de ces choix peut mener à des résultats très fluctuants. Ceci est démontré chez l'humain dans une expérience par (Jones et al., 2007). Neuf groupes ont reçu les mêmes données DTI à analyser avec des techniques voxel-par-voxel. Chaque groupe a alors appliqué son propre pipeline optimisé. Les résultats obtenus fluctuent considérablement entre les groupes avec, la plupart du temps, aucun chevauchement. Avec ces résultats en tête, ma recherche s'est orientée vers l'implémentation et la comparaison de plusieurs pipelines d'analyse automatiques. Trois algorithmes de recalage différents (SyN, DTI-TK et FNIRT) et deux méthodes d'analyse voxel-par-voxel (TBSS et VBA) ont été combinés et les pipelines résultants comparés. Ceci a abouti à l'article soumis à *IEEE Transactions on Medical Imaging* et qui constitue le chapitre 5 de ce mémoire :

- Akakpo, L., Pierre, W.C., Jin, C., Londono I., Pouliot, P., Lodygensky, G.A., 2016. Near equivalence of three automated diffusion tensor analysis pipelines in a neonate rat model of periventricular leukomalacia. Submitted on the 11/15/17 to IEEE Trans Med Imaging.

Les résultats préliminaires de l'analyse des données *ex vivo* ont également été présentés à l'ISMRM 2015 par Chen Jin :

- Jin, C., Castonguay, A., Tremblay, J., Pouliot, P., Londono, I., Lesage, F., Lodygensky, G.A.,

2015. Combination of high resolution *ex vivo* diffusion tensor imaging and tract-based spatial statistics serves as a valuable user-independent method to evaluate long-term effects of an inflammatory exposure in the neonatal rat brain. 23rd annual meeting of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM), Toronto, Canada.

Des analyses supplémentaires sur les données *ex vivo* sont présentées au chapitre 6.

Les données DTI *in vivo* ont un SNR faible et fortement inhomogène (Figure 3.2) dû à une acquisition via une antenne de surface et sont corrompues par des artéfacts. Tout ceci ne permet pas d'appliquer les pipelines opérateur-indépendants décrits ci-dessus de façon robuste et d'autres approches, d'analyse par ROI et par segmentation, ont été explorées et sont décrites au chapitre 4. Les résultats de ces analyses sont présentés dans la première partie du chapitre 7. Des résultats partiels de ces analyses ont été présentés à deux conférences internationales par Gregory A. Lodygensky et Wiston C. Pierre respectivement :

- Akakpo, L., Pierre, W.C., Londono, I., Lesage, F., Pouliot, P., Lodygensky, G.A., 2016. Non-invasive monitoring of neuroprotection in an animal model of preterm inflammatory white matter injury using high field MRI. Pediatric Academic Societies (PAS), Baltimore, MD, USA.
- Pierre, W.C., Akakpo, L., Londono, I., Lesage, F., Pouliot, P., Lodygensky, G.A., 2016. Non-invasive early detection of neuroprotection by high-field MRI in periventricular leukomalacia: a preclinical study. Society for Neuroscience (SfN), San Diego, CA, USA.

### **3.2.2 Objectif O1.2 : "L'optimisation et l'automatisation de l'analyse de données MRS"**

L'analyse des données de spectroscopie est un domaine particulièrement mature et les analyses sont moins dépendantes des paramètres du prétraitement. Bien que le traitement et l'analyse choisis influencent inévitablement le résultat, les conséquences ne sont pas aussi extrêmes qu'en DTI. Un pipeline unique, optimisé pour l'analyse de nos données a donc été implémenté et couplé à une analyse LCModel dont les paramètres ont été optimisés. Ce pipeline est décrit au chapitre 4 et les résultats de l'application sur les données MRS *in vivo* sont présentés dans la deuxième partie du chapitre 7.

### **3.2.3 Objectif O2 : "Analyse et interprétation des données de diffusion et de spectroscopie chez le raton suite à l'exposition à une lésion inflammatoire par injection de LPS"**

Ce point est abordé dans la discussion au chapitre 8 et les résultats des différentes analyses (*ex vivo* et *in vivo*, DTI et MRS) sont considérés collectivement et comparés à ceux de la littérature.



## CHAPITRE 4 LES MODULES D'ANALYSE DES DONNÉES DE RÉSONANCE MAGNÉTIQUE

### 4.1 Analyse des données de diffusion

Les outils présentés ici sont une combinaison de scripts Matlab, *shell* et de macros. Certaines étapes font appel à des fonctions implémentées dans des bibliothèques de traitement d'images et d'analyse d'images médicales. Ces bibliothèques sont principalement FSL, ANTs et DTI-TK. Chacune de ces bibliothèques, ainsi que d'autres qui existent pour l'analyse de données en neuro-imagerie, sont décrites à l'annexe C. Bien que les pipelines soient une combinaison de divers outils, le tout est généralement encapsulé dans des scripts Matlab clairement documentés.

#### 4.1.1 Prétraitement

Le prétraitement des données (figure 4.1) comprend les étapes depuis l'importation des données brutes du scanner jusqu'au traitement des cartes scalaires de diffusion en préparation à de futures analyses (réorientation, masquage, ré-échantillonnage, etc.). Les différentes étapes sont présentées ci-dessous. Le pipeline a été conçu pour traiter une population, bien qu'il puisse aussi être appliqué au traitement d'un sujet en particulier.

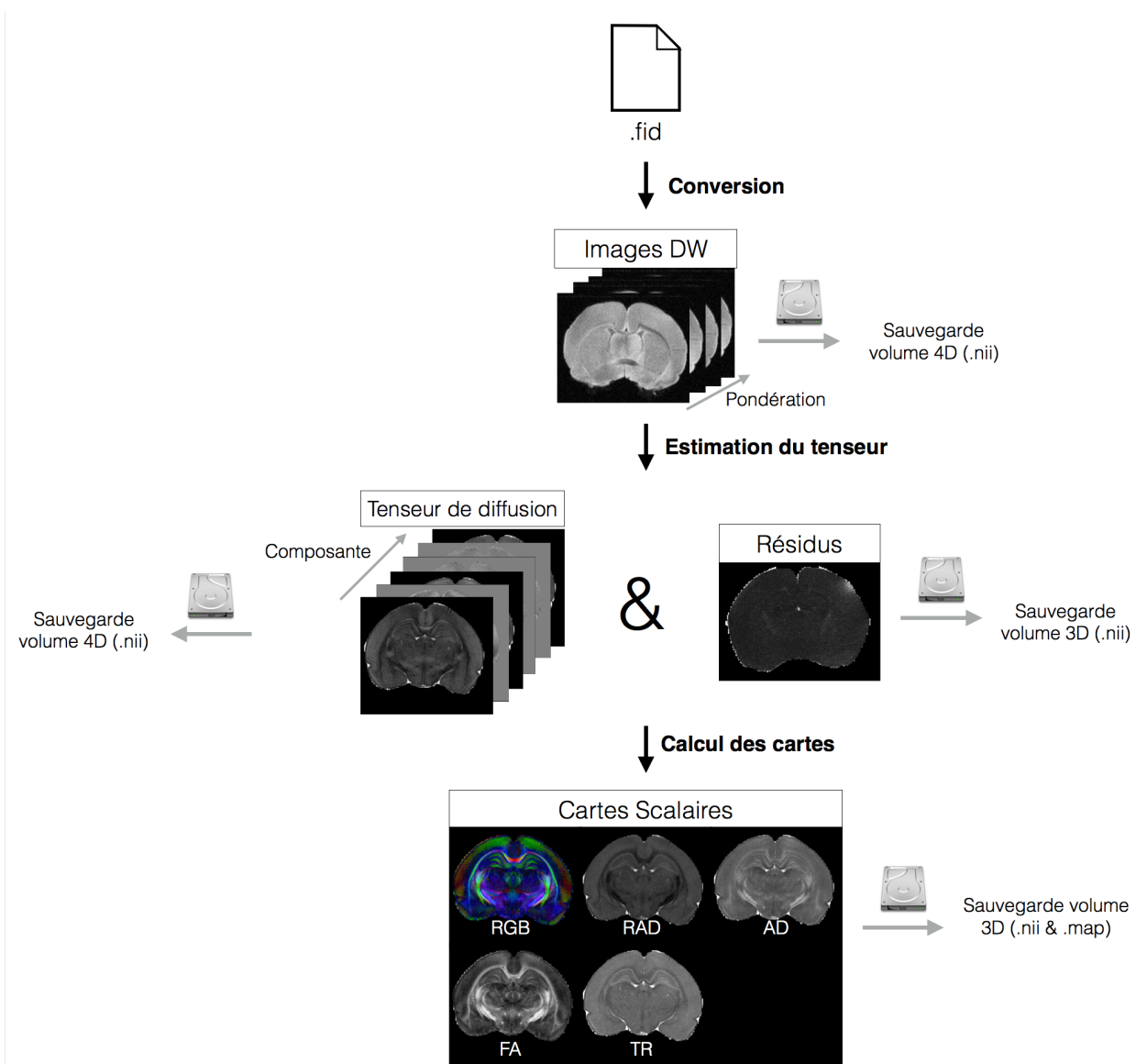


Figure 4.1. : Pipeline de prétraitement des données de diffusion.

#### 4.1.1.1 Importation des données brutes

Les données brutes issues d'un scanner Varian (format .fid) sont converties au format matriciel de Matlab. À partir de ces données, les DWI peuvent être reconstruites par transformée de Fourier inverse et converties au format Nifti (.nii), un format standard pour les volumes en imagerie. Plus précisément, les DWI de chaque pondération sont fusionnées dans un même fichier constituant ainsi un volume 4D (3 dimensions spatiales et une dimension pour la pondération de la diffusion) selon un format standard. Ces images peuvent par la suite être utilisées dans d'autres logiciels de neuro-imagerie tel que DSI-Studio (cf. Annexe C). Ce dernier permet par exemple

d'effectuer la tractographie, un exemple d'application est illustré à la figure 2.19.

#### 4.1.1.2 Estimation du tenseur

Sur base des données DW, le tenseur est estimé en chaque voxel par la méthode des moindres carrés pondérés. Celui-ci est ensuite enregistré en image Nifti selon le format spécifique aux tenseurs (3 dimensions spatiales et une dimension pour les composantes du tenseur). Ces images peuvent alors être utilisées en combinaison avec d'autres outils de neuro-imagerie tel que DTI-TK. De plus, les résidus de l'estimation sont conservés et sauvegardés. Ceci permet à l'utilisateur de s'assurer de la qualité de l'estimation.

#### 4.1.1.3 Dérivation des cartes scalaires

Les différentes cartes scalaires (FA, AD, RAD et TR/MD) sont calculées et enregistrées sous plusieurs formats : .nii et .map. Ce dernier permet le lien avec des plugins d'ImageJ, un logiciel *open-source* de traitement d'image.

#### 4.1.1.4 Traitement des images

Plusieurs fonctions de traitement des images sont également implémentées dans ce pipeline. Celles-ci permettent la réorientation des images, le masquage, le changement de résolution (avec différentes options d'interpolation) et l'adaptation de la taille de l'espace. En particulier, cette dernière étape permet de réduire la "boîte" des images afin d'obtenir le meilleur ratio signal/bruit dans le volume. Ces étapes peuvent être appliquées au besoin et ne sont pas requises.

### 4.1.2 Normalisation spatiale

Il a été vu au chapitre 2 qu'utiliser un template construit à partir de la population pour effectuer la normalisation spatiale permettait une meilleure sensibilité et spécificité d'analyse. Pour cela, trois approches de construction de template ont été implémentées et incluses dans les pipelines d'analyse : *Symmetric Group-wise Normalisation* (SyGN) de ANTs, la normalisation spatiale avec DTI-TK, et la normalisation spatiale avec FNIRT.

Toutes ces méthodes de construction de templates ont été implémentées de sorte à pouvoir être exécutées sur plusieurs CPU en parallèle, ce qui permet d'accélérer considérablement le temps de calcul. De plus, pour chaque algorithme, une étape supplémentaire est disponible au cours de laquelle d'autres images peuvent être recalées au template construit.

#### **4.1.2.1 Symmetric Group-wise Normalisation (SyGN) de ANTs**

Le module ANTs fournit le script permettant la construction de ce template tel que présentée au chapitre 2. Le script a été intégré au pipeline Matlab et permet un ajustement facile des paramètres de la construction (limite du nombre d'itérations, métrique, etc.).

#### **4.1.2.2 Normalisation spatiale avec DTI-TK**

Les scripts de construction de template fournis par le module DTI-TK ont également été intégrés au pipeline Matlab et similairement à SyGN, les paramètres peuvent y être ajustés. Les auteurs conseillent d'initialiser le template en alignant rigidelement chaque sujet à un template standard. Ici, cette étape a été implémentée de sorte que n'importe quelle image puisse être choisie comme cible.

#### **4.1.2.3 Normalisation spatiale avec FNIRT**

FSL ne propose pas de méthode pour la construction de templates. Une approche décrite dans (Ball et al., 2010) a donc été implémentée. Le sujet le plus représentatif, tel que décrit au chapitre 2, est déterminé et toute la population y est recalée. Le template est ensuite l'image moyenne de la population normalisée sur le sujet le plus représentatif.

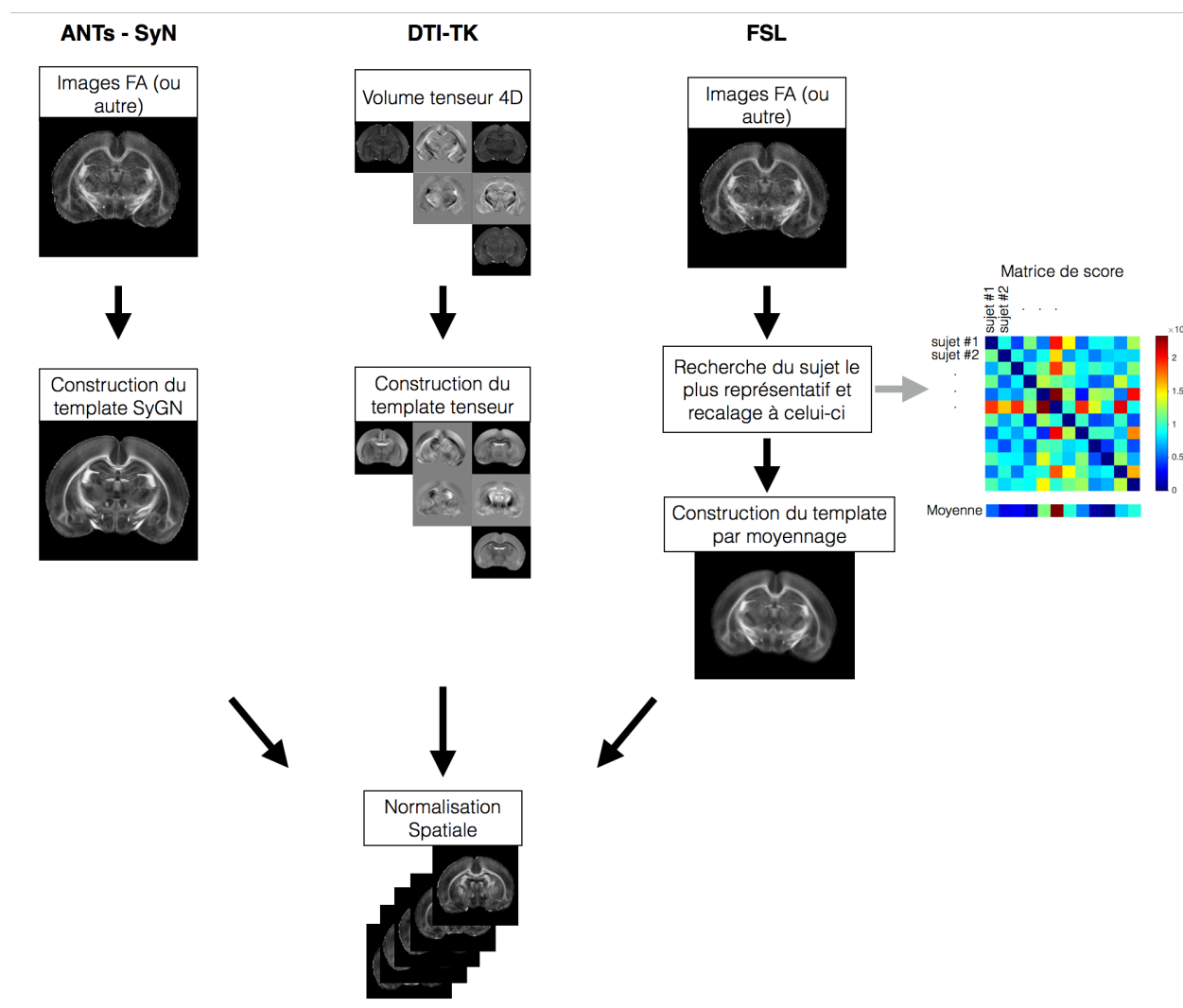


Figure 4.2. : Les différents pipelines de normalisation spatiale implémentés. La matrice de score compile l'amplitude de déformation nécessaire au recalage d'un sujet sur un autre pour chaque paire de sujets. Notons que la non-symétrie de cette matrice explicite bien l'asymétrie du recalage qui caractérise de nombreux algorithmes (en l'occurrence, FNIRT).

#### 4.1.2.4 Évaluation de la performance de la normalisation spatiale

Les métriques présentées au chapitre 2 pour quantifier la qualité du recalage ont également été implémentées. Notamment, les scripts permettent la mesure de la covariance, de la cohérence dyadique, des chevauchements des paires vecteur propre - valeur propre et de la similarité entre tenseurs (euclidienne et déviatorique).

### 4.1.3 Segmentation à partir d'un atlas

Une méthode de segmentation automatique basée sur le recalage à un atlas a été intégrée aux pipelines. Si nécessaire, le template peut être recalé à un atlas et en combinant et inversant la transformation calculée ainsi que celles qui transforment chaque image au template, les images peuvent être segmentées en transformant la segmentation dans l'espace natif de chaque image (figure 4.3). Cette méthode n'a pas été appliquée pour l'analyse des données disponibles et est décrite ici à titre informatif.

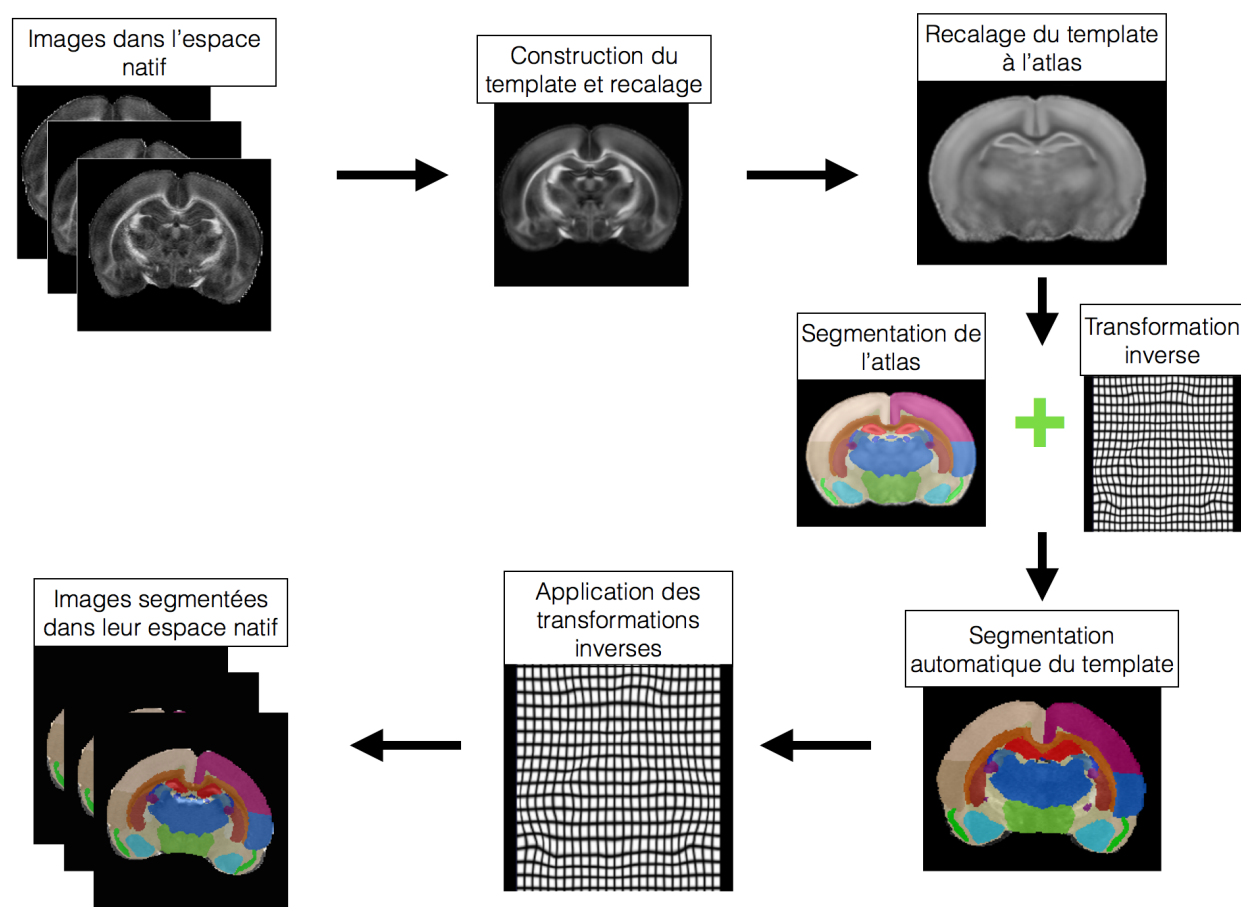


Figure 4.3. : Segmentation automatique basée sur un atlas.

### 4.1.4 Analyses voxel-par-voxel et tests statistiques

Des scripts permettant de conduire les analyses VBA et TBSS ont été développés et incorporés au pipeline Matlab. Les scripts TBSS ont été adaptés à partir de ceux distribués dans le module FSL. Notamment le seuil FA, fixé de telle sorte à séparer au mieux la matière blanche de la matière grise, établi dans l'article original à 0.2 chez l'humain a empiriquement été fixé à 0.4

pour le rat. Ce choix permet de conserver les faisceaux de matière blanche tout en évitant les zones corticales qui présentent une certaine anisotropie. Les scripts permettent de conduire une analyse TBSS classique basée sur la FA ou basée sur n'importe quelle autre carte scalaire (AD, RAD, ...). Il est également possible de construire un squelette symétrique afin de tester la gauche de la droite.

Les tests statistiques disponibles pour VBA et TBSS sont uniquement les tests non-paramétriques de permutation et le seuillage de l'image statistique est fixé à l'approche TFCE.

#### **4.1.5 Analyse par histogramme**

Un module d'analyse par histogramme a également été développé. Celui-ci permet de comparer entre plusieurs groupes les histogrammes dans des régions définies par un masque. Actuellement, le module permet la comparaison de la position du mode et la hauteur normalisée de celui-ci.

#### **4.1.6 Analyse par régions d'intérêt**

Intrinsèquement, l'analyse par ROI ne nécessite pas de scripts. Cependant, les analyses par ROI demandent la gestion et le traitement de nombreux fichiers, et particulièrement en imagerie de diffusion qui offre plusieurs contrastes et donc plusieurs images par sujet. Afin de faciliter ce type d'analyse plusieurs scripts sont rendus disponibles. Ils permettent, entre autres, le tracé de ROI en profitant des différents contrastes de diffusion (FA, AD, RGB,...) simultanément, la mesure en lot des ROI sur plusieurs contrastes et la compilation des résultats en vue des analyses statistiques. Ces scripts ont été développés pour des ROI tracées en utilisant ImageJ ou ITK-SNAP (cf. annexe C).

#### **4.1.7 Parcellisation de la matière blanche sous-corticale**

Cette approche a été développée spécifiquement pour l'analyse des données *in vivo* pour compléter l'analyse par ROI. Elle permet la parcellisation automatique de la matière blanche sous-corticale en trois sous-segments : corps calleux, cingulum gauche et droit. Sur base d'une segmentation manuelle de la matière blanche sous-corticale constituée du corps calleux, de la capsule externe et du cingulum (semblable à celle de la figure A.2b à l'annexe A), chaque région individuelle est identifiée. Le principe est illustré à la figure 4.4. Notons que dans ce contexte, la région dénommée comme cingulum inclut en réalité également les voxels de la capsule externe sous-jacente.

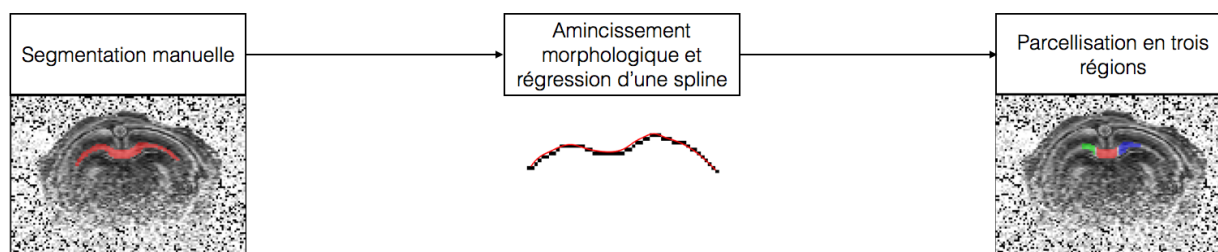


Figure 4.4. : Principe de l'analyse automatique de la matière blanche.

#### 4.1.7.1 Régression d'une spline cubique à la matière blanche sous-corticale

La parcellisation repose sur la forme morphologique en "M" en vue coronale de ces faisceaux de matière blanche. La concavité et les inflexions sont conservés même lorsque le cerveau est fortement déformé (Figure 3.2). Les maxima sont situés au niveau des cingulums et le minimum entre ceux-ci est au niveau du corps calleux. En régressant une fonction telle que celle-ci épouse la forme des faisceaux de matière blanche, il est possible de définir ces 3 régions mathématiquement sur base des valeurs locales de la fonction (angles et dérivées première et seconde). Les splines cubiques ont des dérivées premières et secondes continues et constituent donc des candidates de choix pour conduire la régression.

Les étapes dans la régression d'une spline à la segmentation sont les suivantes :

- Amincissement morphologique de la segmentation en une ligne (ligne pixelisée en noir à la figure 4.1b).
- Sélection de points sur cette ligne pour la régression de la spline
- Régression de la spline

Afin de permettre de régresser la spline de telle sorte que sa courbure soit la plus proche possible de celle des faisceaux de matière blanche, il est nécessaire de sélectionner des points spécifiques qui permettent le mieux d'approcher la forme du faisceau (figure 4.5). Ces points sont choisis comme étant : les extrémités, les points centraux de plateaux et les maxima locaux. Ces points sont complétés par des points intermédiaires si la distance entre deux points dépasse un certain seuil. Cela permet de garder la spline la plus proche possible de la forme du faisceau de matière blanche. La recherche des points peut être paramétrée par l'utilisateur en précisant la taille minimale pour qu'une succession de points soient considérée comme un plateau, la largeur de la



fenêtre pour la recherche des maxima locaux et la distance minimale entre deux points. Finalement, sur base des points définis, une spline est calculée (ligne continue rouge Figure 4.4).

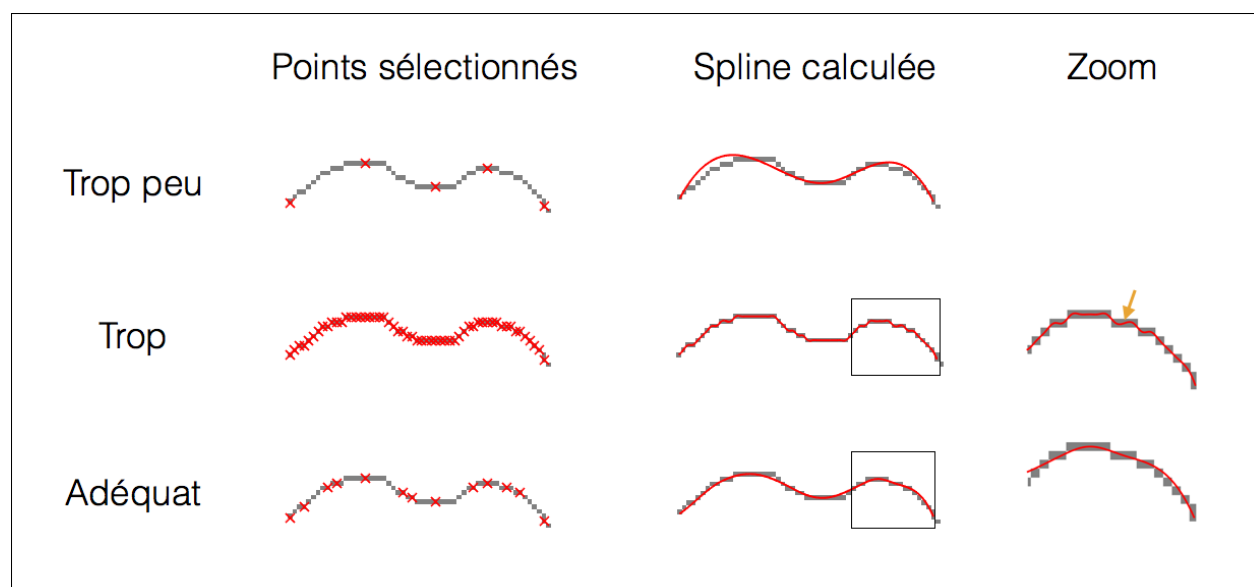


Figure 4.5. : Importance de la sélection des points pour la régression d'une spline cubique. Si trop peu de points sont utilisés, la courbure de la spline ne représente pas celle de la matière blanche en ce point. À l'inverse, si trop de points sont sélectionnés, des ondulations (mises en évidence par la flèche jaune) locales sont introduites.

#### 4.1.7.2 Parcellisation

Une fois la spline calculée, il est nécessaire de déterminer et d'extraire les régions d'intérêt sur base de sa courbure. Les cingulum gauche et droit sont caractérisés par une concavité vers le bas de la spline, ce qui se traduit en une dérivée première qui passe du positif au négatif et d'une dérivée seconde négative tout du long. À l'opposé, le corps calleux est caractérisé par une concavité vers le haut ce qui équivaut à un passage de la dérivée première du négatif au positif et à une dérivée seconde positive tout du long (figure 4.6). Les dérivées premières et secondes sont la base de la parcellisation, cependant les valeurs angulaires locales et la distance au point d'inflexion entrent également en jeu pour permettre un meilleur contrôle de la taille de la région segmentée. Ces paramètres permettent d'obtenir des ROI sur une même zone anatomique et d'une taille plus ou moins similaire à travers tous les sujets. En effet, si on ne se base que sur des valeurs angulaires locales, si la courbure est très marquée au niveau du cingulum d'un sujet, la taille de la région

segmentée sera très limitée.

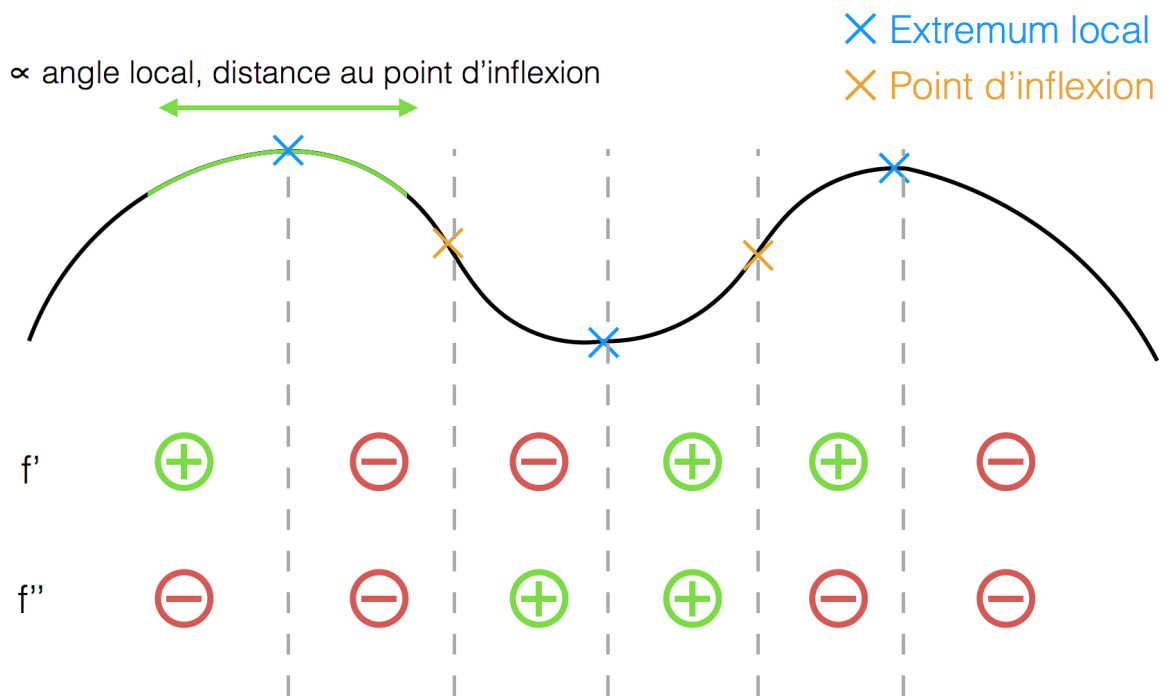


Figure 4.6. : Paramètres de la spline pour la parcellisation. Les variations de polarité de la première et deuxième dérivée sont les premiers outils qui permettent la parcellisation. Additionnellement, l'étendue de la région segmentée (ici en vert pour le cingulum gauche) est fonction de l'angle local et de la distance au point d'inflexion. Chacun de ces paramètres est fixé par l'utilisateur.

La figure 4.7 présente l'algorithme de parcellisation automatique. L'algorithme a été implémenté dans Matlab. L'utilisateur doit préciser deux ensembles de paramètres : ceux pour le choix des points pour la régression et ceux qui contrôlent l'étendue de la région segmentée.

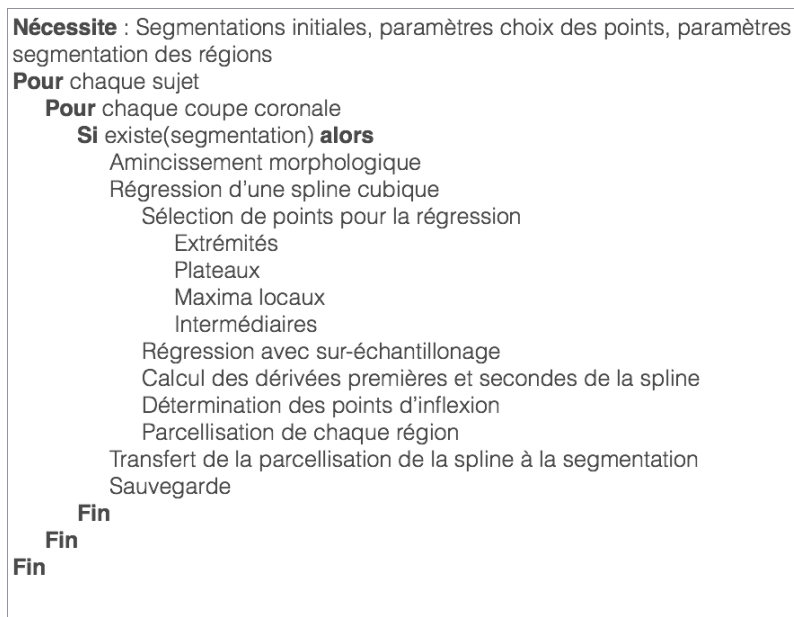


Figure 4.7. : Algorithme de la parcellisation automatique du corps calleux.

## 4.2 Analyse des données de spectroscopie

Le pipeline d'analyse des données de spectroscopie est entièrement développé dans Matlab. Il est majoritairement basé sur le *framework* de traitement des spectres implémenté dans le module Matlab, *The FID Appliance* (Simpson et al., 2015). Le pipeline a été implémenté pour le prétraitement spécifique de nos données. Cependant, celui-ci peut facilement être adapté, en profitant du large éventail de fonctions disponibles dans FID-A, pour le prétraitement d'autres ensembles de données ayant été acquis sous un protocole différent. Essentiellement, le pipeline permet de lier le prétraitement directement à une analyse LCModel, et de traiter les spectres en lot. Finalement, des scripts permettant la compilation des résultats LCModel en vue de l'analyse statistique complètent le processus d'analyse. La figure 4.8 illustre les étapes du pipeline d'analyse des données MRS.

Les étapes de traitement incluses sont, dans l'ordre : alignement des spectres en phase et fréquence, addition des spectres, correction de l'offset, troncature des premiers points du FID dans le domaine temporel, mise à l'échelle des spectres. L'alignement des spectres est fait selon la méthode de (Near et al., 2014), introduite au chapitre 2.

Il a été vu que la paramétrisation de LCModel est entièrement décrite par le *control file*. Le *control file* optimisé pour nos données est donné à l'annexe E. Rappelons cependant que LCModel

inclut plusieurs opérations de traitement avant la quantification, notamment la correction des courants de Foucault, la correction de la phase et l'estimation de la ligne de base. Une attention particulière est ici prêtée au paramètre WCONC. Pour rappel, ce paramètre indique le contenu en eau de l'échantillon, et les concentrations absolues mesurées par LCModel dépendent directement de ce paramètre. Celui-ci a été estimé et fixé à 48888. L'estimation est basée sur la formule  $55556 * \beta_{MR}$  (Ernst et al., 1993) où  $\beta_{MR}$  est le pourcentage du contenu en eau. D'après (De Souza and Dobbing, 1971), ce contenu est d'environ 88% chez le rat aux alentours de P4. On obtient donc  $55556 * 0.88 \approx 48888$ .

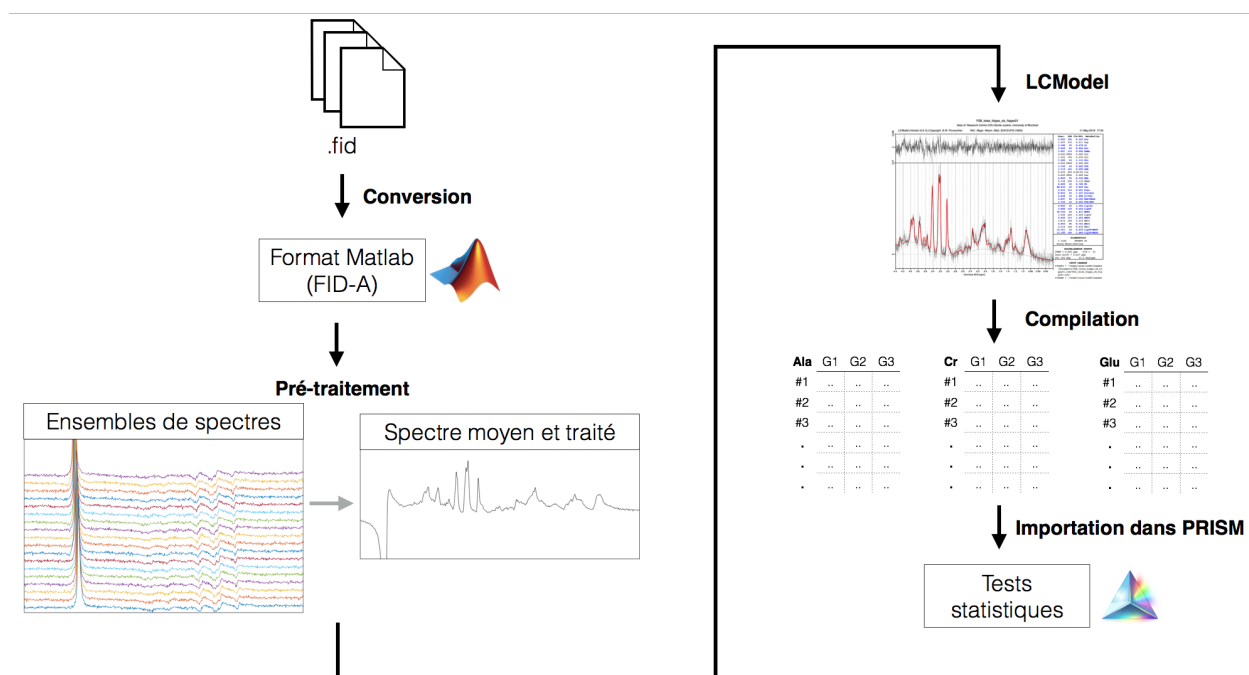


Figure 4.8. : Pipeline de traitement des données MRS.

## **CHAPITRE 5     ARTICLE 1 : NEAR EQUIVALENCE OF THREE AUTOMATED DIFFUSION TENSOR ANALYSIS PIPELINES IN A NEONATE RAT MODEL OF PERIVENTRICULAR LEUKOMALACIA**

Cet article s'attèle à la comparaison de plusieurs pipelines d'analyse voxel-par-voxel sur un modèle animal de leucomalacie périventriculaire et démontre une forte cohérence dans les résultats obtenus. L'article a été soumis pour révision au journal *IEEE Transactions on Medical Imaging* le 15 novembre 2016.

### **Authors**

Luis Akakpo<sup>1</sup>, Wyston C. Pierre<sup>2</sup>, Chen Jin<sup>2</sup>, Irène Londono<sup>2</sup>, Philippe Pouliot<sup>1,3</sup> et Gregory A. Lodygensky<sup>2,3</sup>.

### **Affiliations**

<sup>1</sup> École Polytechnique de Montréal, Montréal, QC H3T 1J4, Canada

<sup>2</sup> CHU Sainte- Justine, Montréal, QC H3T 1C5 Canada

<sup>3</sup> Montreal Heart Institute, Montréal, QC H1T 1C8, Canada

## 5.1 Abstract

Automated analysis of diffusion tensor imaging (DTI) data is an appealing way to process large data sets in an unbiased way. However, automation can sometimes be linked to a lack of interpretability. Two whole-brain, automated, and voxelwise methods exist: voxel-based analysis (VBA) and tract-based spatial statistics (TBSS). In VBA, the amount of smoothing has been shown to influence results. TBSS is free of this step but a projection procedure is introduced to correct for residual misalignments. This projection assigns the local highest FA value to the mean FA skeleton, which represents white matter tract centers. For both methods, the normalization procedure has a major impact. These issues are well-documented in humans but, to our knowledge, not in rodents. In this study, we assessed the quality of three different registration algorithms (ANTs SyN, DTI-TK, and FNIRT) using study-specific templates and their impact on automated analysis methods (VBA and TBSS) in a rat pup model of diffuse white matter injury presenting large unilateral deformations. VBA and TBSS results were stable and anatomically coherent across the three pipelines. For VBA, in regions around the large deformations, interpretability was limited because of the increased partial volume effect. With TBSS, two out of the three pipelines found at the known injury site a significant decrease of axial diffusivity (AD). These results demonstrate that automated voxelwise analyses can be used in an animal model with large deformations.

***Index Terms*— Diffusion Tensor Imaging (DTI), neonate rat, tract-based spatial statistics (TBSS), voxel-based analysis (VBA), spatial normalization**

## 5.2 Introduction

Diffusion tensor imaging (DTI) is a magnetic resonance imaging (MRI) technique that allows to map and non-invasively study tissue microstructure based on water diffusion<sup>1,2</sup>. Moreover the scalar values that can be derived from the model, namely fractional anisotropy (FA), axial (AD), radial (RAD) and mean diffusivity (MD, also known as apparent diffusion coefficient or ADC), have been shown to be potent markers of white matter tracts integrity<sup>3,4</sup>.

A simple way to analyse DTI data is by region-of-interest. However this kind of analysis is time-consuming and subject to intra- and inter-rater variability. Whole-brain, automated methods

have been developed to address these problems. The more straightforward way to compare the diffusion parameters is by performing voxelwise tests on a coregistered data set. This approach, known as Voxel-Based Analysis (VBA), strongly depends on a highly accurate normalization, without which a high rate of false positives errors may arise<sup>5,6</sup>. Prior to voxelwise testing a gaussian blur is applied to increase normality of data and help improve residual misalignments. This smoothing procedure is problematic as there is no consensus as to the smoothing extent required and it directly affects the sensitivity of the analysis<sup>7,8</sup>.

With the aim of freeing DTI data analysis of these limitations, Smith et al.<sup>9</sup> introduced Tract-Based Spatial Statistics (TBSS). The key element of this popular method is the introduction of a "group mean FA skeleton" on which the statistical testing is performed. The mean FA skeleton is obtained by thinning the white matter tracts of the mean FA image. This *skeletonisation* of white matter relies on a crucial and controversial step: the projection. To ensure that the same anatomical region is represented in this skeleton across subjects, a search is conducted for the local center of the tract, defined as the voxel with highest FA value in the direction perpendicular to the tract<sup>9</sup>. This voxel value is then projected onto the skeleton. This step was introduced as a way of dealing with the residual misalignments without the smoothing. However, Zalesky<sup>10</sup> showed that, at best, the benefits of the projection in terms of correcting misalignments are present for less than 10% of the voxels, even though the projection considerably increased the correspondance in FA *values* across subjects. Furthermore Bach et al.<sup>11</sup> demonstrated that tract adjacency is not always correctly handled and that voxels from a certain tract might end up projected onto a separate tract. Still, TBSS remains one of the most widely used methods for user-independent analysis of DTI data sets.

For both VBA and TBSS, a prior high-quality normalization is essential. This has been largely documented in human studies, where the use of study-specific templates improved the coregistration<sup>11-14</sup> and TBSS sensitivity and specificity<sup>13,14</sup>. Moreover Bach et al.<sup>11</sup> showed that when combining TBSS with high-quality normalization using DTI-TK, a toolbox for the normalization of diffusion tensor data sets, the tract adjacency was better handled. In one study, higher VBA sensitivity over TBSS was demonstrated following improved registration<sup>14</sup>. In rodents, the use of TBSS to analyse DTI data<sup>15-22</sup> has been generally inconsistent and sub-optimal as to the parametrization: the FA threshold separating white from grey matter, varies between the studies and the normalization strategy is often limited to the most representative subject. Moreover, no study assessed the impact of the projection.

There are numerous registration algorithms available. However for this study we narrowed it down to three: Symmetric Normalization (SyN) of the Advanced Normalization Tools (ANTs), DTI-TK and FNIRT (FMRIB Non-Linear Image Registration Tool). The SyN model has been shown to perform best among 14 other diffeomorphic methods with human data sets<sup>23</sup>. Moreover, it was used together with VBA in a recent study and the combination demonstrated high sensitivity and specificity<sup>14</sup>. DTI-TK demonstrated good registration capability in several studies<sup>11, 24, 25</sup>. It uses the 6 components of the diffusion tensor, which has been showed to yield more stable spatial normalization across subjects in human studies<sup>26</sup>. Furthermore, tensor reorientation is directly incorporated in the optimization process. Finally, FNIRT is the standard algorithm for conducting normalization in TBSS studies as they are both part of the FSL suite.

In this study we assessed white matter integrity in a rat model of periventricular leukomalacia (PVL). This model of inflammatory white matter injury consists in the injection of lipopolysaccharide (LPS) in the left side of the corpus callosum in rat pups<sup>27</sup>. The strong inflammatory reaction induced by LPS, through microglia activation and cytokine releases, has been shown to cause diffuse injury and ventricular dilatation<sup>27,28</sup>, mimicking the injury observed in preterm infants.

The goal of the present study is to investigate the use and interpretability of whole-brain automated analysis methods, VBA and TBSS, conjointly with three different registration algorithms: ANTs SyN, DTI-TK and FNIRT. To our knowledge, this is the first time that the impact of different normalization algorithms on the following voxel-based analysis methods of DTI data are tested in an animal model presenting large deformations. The results could guide future studies on the choice of an user-independent method and normalization strategy.

## **5.3 Methods**

### **5.3.1 Animal preparation**

All animal handling procedures were approved by the Institutional Committee of Good Practice for Animal Use in Research at the Research Center of Sainte-Justine University Hospital. A total of 24 Sprague-Dawley rats ( $8.38 \pm 0.38$  g weight, Charles River, Wilmington, MA) were randomly assigned to two different groups: LPS (n=12), which were intra-cerebrally injected with a solution of lipopolysaccharides (0.8 mg/kg; E. Coli, serotype 055:B5, Sigma St Louis, MO) and



SHAM (n=12), injected with a equivalent volume of 0.9% sterile saline. The injections were conducted on postnatal day 3 (P3) in the corpus callosum at a level equivalent to P-7,c9<sup>29</sup>, using a micro-ultrasound guidance system (Vevo LAZR imaging system, FUJIFILM VisualSonics, Canada) as previously described<sup>30</sup>. All procedures were conducted under isoflurane anesthesia to minimize pain. At P24, animals ( $64.8 \pm 10.6$  g) were deeply anesthetized with isoflurane and intracardially perfused with saline (NaCl 0.9%) followed by 4% paraformaldehyde (PFA). Brains were collected and conserved in PFA at 4 °C. Before DTI measurements, the brain samples were placed in plastic tubes and bathed in Fomblin (Ausimont, Thorofare, NJ).

### 5.3.2 MRI acquisition

Data sets were acquired on an actively shielded 7T/30-cm horizontal bore magnet scanner interfaced with a DirectDrive console (Agilent, Palo Alto, CA) with 600 mT/m gradients. Samples were imaged using a custom-built solenoid coil and a custom-built holder. DTI was performed using a spin-echo multi-slice sequence (TE=0.03 s; TR=3 s). Diffusion-weighted volumes ( $\delta=6$  ms;  $\Delta=12$  ms; b-value between 0-2000 s/mm<sup>2</sup>) were acquired in 30 different directions together with a volume with no diffusion-weighting ( $B_0$  volume). Data were acquired with a field-of-view of 14 mm x 14 mm and an acquisition matrix of 192 x 128 over 72 slices of 300  $\mu$ m thickness yielding volumes with a native resolution of 73  $\mu$ m x 109  $\mu$ m x 300  $\mu$ m.

### 5.3.3 DTI processing

K-space was zero-padded to 192 x 192 yielding an in-plane resolution of 73  $\mu$ m x 73  $\mu$ m after inverse Fourier transform. Diffusion tensors were fitted to the diffusion-weighted data with a weighted least-squares regression through an in-house MATLAB 2015a software (The MathWorks, Natick, MA). Tensors were interpolated to get 73  $\mu$ m isotropic volumes. Volumes were manually masked using masks derived from the  $B_0$  volume. This step was necessary to obtain volumes containing the same anatomical regions since the extraction of the fresh brain from the skull left varying parts of the olfactory bulbs and cerebellum. The tensor volumes bounding box was restricted to the area with signal. This was required in order to adequately run the tensor normalization algorithm implemented in DTI-TK. All tensor volumes were confirmed to be everywhere symmetric and positive-definite and checked for outliers. Finally, FA, AD and RAD maps were derived from the tensor volumes.

### 5.3.4 Normalization using study-specific templates

For all pipelines, only the sham subjects were used for template construction as the pathology often caused large deformations that would affect the template ability to correctly represent a normal subject. The LPS group was subsequently registered to the study-specific template using the same parameters as in the template construction procedure. To allow an unbiased comparison of the normalization pipelines, the parameters were kept as default when possible. The three different pipelines considered for normalization are described hereafter. Table 5.1 summarizes the main differences.

Table 5.1. : Comparison of the three normalization pipelines implemented and their main characteristics.

	DTI-TK	ANTs-FA	FSL-FA
Data resolution ( $\mu\text{m}$ )	105 x 92 x 206	73 x 73 x 73	73 x 73 x 73
Data type	Diffusion tensor	FA	FA
Non-linear transformation	Piecewise affine registration	Symmetric Normalization (SyN)	Cubic B-splines
Metric (Default)	Euclidean distance squared (EDS)	Cross-correlation	Sum of squared differences (SSD)

#### 5.3.4.1 Diffusion Tensor ToolKit (DTI-TK)

The diffeomorphic transformation used in the template construction procedure is based on an algorithm called piecewise affine registration<sup>31</sup>, that hierarchically subdivides the volumes in equal-size regions and undergoes region-wise affine registrations with constraints on the smoothness at region interfaces. In order to apply the piecewise affine registration, the tensor volumes were first resampled to dimensions of size  $2^N$ , i.e. 128 x 128 (105  $\mu\text{m}$  x 92  $\mu\text{m}$ ) for the in-

plane matrix over 64 slices of 206  $\mu\text{m}$  thickness. First, all sham subjects were rigidly coregistered to a chosen subject with a sampling step size of 2 in every direction and a condition of convergence of 0.01. The rigidly registered tensors were then averaged using the Log-Euclidian framework<sup>32</sup>, which allows to preserve white matter orientation with minimal blurring. This average tensor image served as the bootstrap for the template construction. The template was constructed over 3 rigid registration iterations, followed by 3 affine iterations and finally 6 diffeomorphic iterations with a threshold on convergence of 0.002. The template was updated after each iteration by averaging the normalized images. All steps were conducted using the Euclidian Distance Squared between tensors as a metric. The length scale used in the piecewise affine deformation field was reduced from 1.0 mm for humans, to 0.05 mm to better fit young rats. All tensors were reoriented to the template space, using the preservation of principal directions scheme<sup>33</sup>. Tensors were then resampled to the starting resolution allowing the comparison of all techniques with the same resolution. Diffusion scalar indices FA, AD, RAD and trace ( $\text{TR}=3*\text{MD}$ ) were then derived from the coregistered tensors for further analysis.

#### **5.3.4.2 Advanced Normalization Tools (ANTs-FA)**

The FA study-specific template was constructed using the symmetric group-wise normalization method<sup>34</sup>. The algorithm uses pairwise symmetric diffeomorphisms and explicit template updates to ensure an unbiased template in both appearance and shape. The construction of the study-specific template was conducted using the cross-correlation metric, with a kernel radius of 4 voxels. Rigid, affine and diffeomorphic steps were conducted in a multi-resolution scheme with factors of downsampling of 6, 4, 2, 1 voxels and smoothing of 3, 2, 1 and 0 voxels for each of the 4 scales. The maximum number of iterations within each step were limited for the linear transformations to 500, 100, 25, and 10 for each scale respectively and for the non-linear to 100, 50, 25, and 10. These three registration steps altogether constituted a single iteration after which the shape and appearance of the template were updated. Three of such iterations were performed. The computed transforms were then applied to the native tensors volumes which were reoriented using the preservation of principal directions scheme as well. All diffusion scalar indices (FA, AD, RAD and TR) were derived from the coregistered tensors for further analysis.

### 5.3.4.3 FMRIB Software Library (FSL-FA)

The study-specific template was built using the library registration tools: FMRIB Linear Image Registration Tool (FLIRT)<sup>35</sup> and Non-Linear Image Registration Tool (FNIRT)<sup>36</sup>. In its default setting, FNIRT models displacement fields as a combination of cubic B-splines and regularizes the displacement field using bending energy. The normalization strategy of Ball *et al.*<sup>12</sup>, which was developed in the context of adapting TBSS for human neonates, was implemented for our animal data. First, a search for the most representative subject (MRS) was conducted by registering every subject FA image to all the others. The MRS was selected as the subject with the lowest mean displacement to all other subjects<sup>9</sup>. The study-specific template was then the average of the data set coregistered to the MRS. Afterwards, all subjects were registered to the FSL-FA template. All registrations were performed using FLIRT with 12 degrees-of-freedom, followed by FNIRT. Since some default parameters (warp resolution, bias-field resolution and smoothing kernels) were at the scale of a human brain, they were scaled down for our study. Warp and bias-field resolution were set to 0.5 mm x 0.5 mm x 0.5 mm and 3.5 mm x 3.5 mm x 3.5 mm respectively. Full-width at half maximum (FWHM) of the gaussian smoothing kernels of the moving images and reference image were set to 0.4, 0.3, 0.15 mm and 0.3, 0.15, 0 mm respectively.

## 5.3.5 Automated Whole-brain Voxelwise Analyses

### 5.3.5.1 Voxel-Based Analysis (VBA)

The white matter mask was derived by thresholding at 0.4 the average of the FA images. This threshold value was empirically chosen to keep all main white matter tracts while avoiding grey matter. Data from a study by Calabrese and Johnson on the developing rat brain<sup>37</sup> supported this choice. Images were then smoothed by an isotropic 150  $\mu$ m FWHM gaussian linear filter. The analysis was subsequently conducted with the FA, AD, RAD and TR data. Statistical testing was done via a non-parametric, permutation-based approach<sup>38</sup>. The null distribution to which the data were tested against was built over 5000 permutations using the *randomise* program<sup>39</sup>. Threshold-free cluster enhancement<sup>40</sup> optimized for 3D data (-T option) was used for the detection of signal clusters and results were corrected for multiple comparisons by controlling for the family-wise error rate.

### 5.3.5.2 Tract-Based Spatial Statistics (TBSS)

The coregistered set of FA images were averaged to yield a mean FA image. The mean FA skeleton for TBSS analysis was constructed from this mean FA image by first thresholding it at 0.4, as with VBA, and applying morphological thinning on the resulting white matter image. Projection, as described above, was then performed. The *randomise* program was run with 5000 permutations. This analysis was conducted for FA, AD, RAD and TR diffusion maps. In order to ascertain that significant results would not come from erroneous projections, the significant voxels were back-transformed into the template space and visually inspected for each subject. The mean FA skeleton was back-projected as well to check for potential problems of contiguity in the subjects' space<sup>10</sup>.

### 5.3.6 Assessing normalization performance

The quality of normalization for the three pipelines was assessed both quantitatively and qualitatively. Two voxelwise metrics were employed to assess the performance of the normalization: the dyadic coherence ( $\kappa$ )<sup>24,41</sup> and the coefficient of variance (COV).  $\kappa$  is a normalized index that captures the coherence in orientation of the tensors principal eigenvector. It is equal to 0 when the first eigenvectors across subjects are randomly oriented and 1 when they are identically oriented. The COV is defined as the ratio of the standard deviation and the mean of the voxel values across subjects and gives a good estimation in the correspondance of voxel *values* accross subjects. These two voxelwise statistics were computed and compared for voxels with  $FA > 0.4$ , assumed to be white matter (WM), and empirical cumulative distributions functions (ECDF) were constructed to facilitate visual comparison. The best performing method for  $\kappa$  would yield globally higher  $\kappa$  values and the corresponding ECDF will be more to the right. Conversely, good performance for COV is reflected by generally lower COV values and an ECDF more to the left.

## 5.4 Results

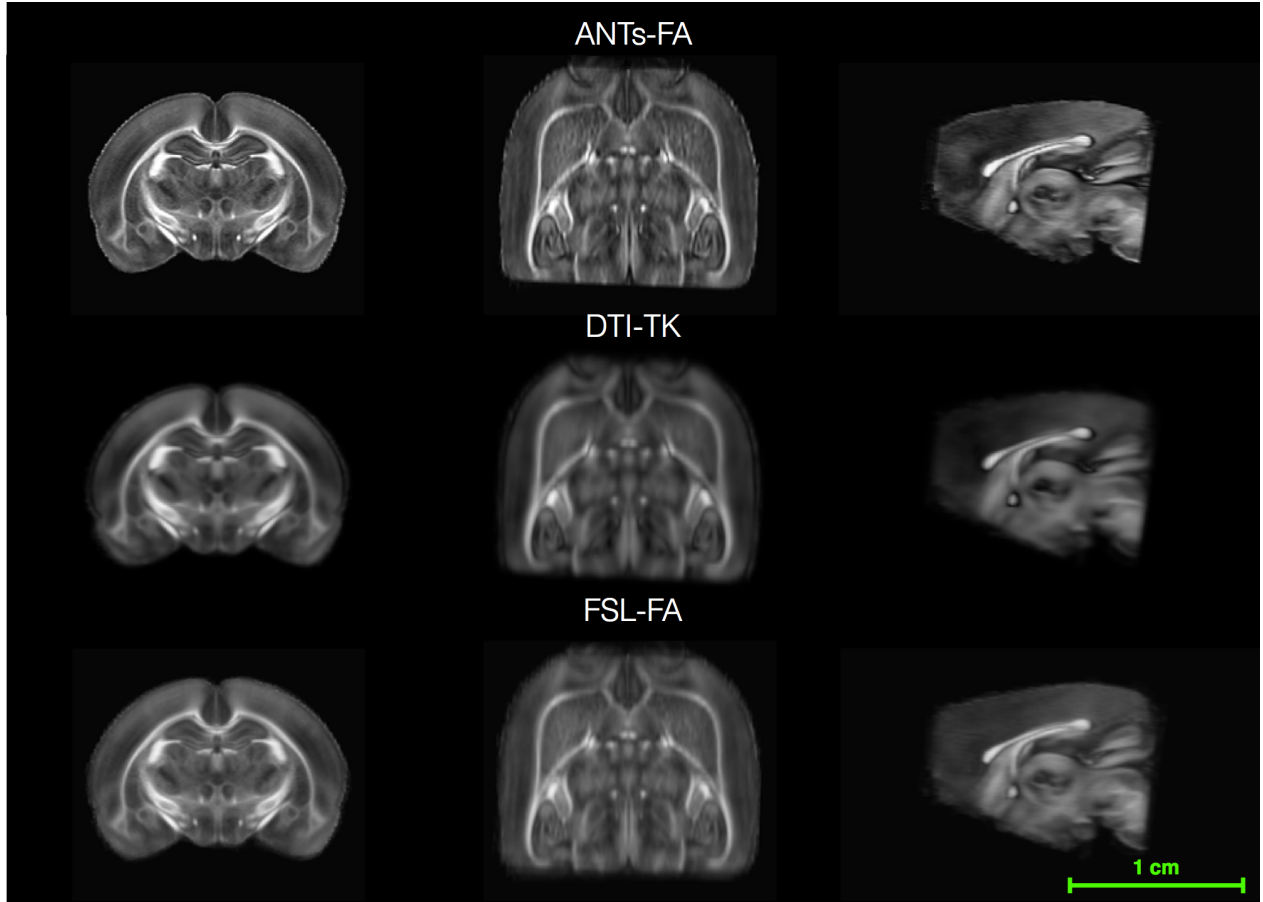


Figure 5.1. : FA images of the study-specific templates in stereotaxic space<sup>37</sup> for each of the three pipelines.

### 5.4.1 Comparison of normalization strategies

Fig. 5.1 shows the templates constructed by each pipeline. The ANTs-FA template shows higher contrast of structures but appears noisier than the other two. The ECDF of  $\kappa$  and COV for the three pipelines are presented in Fig. 5.2. The dyadic coherence revealed a better performance of DTI-TK (mean  $\kappa_{WM} = 0.8588$ ) and FSL-FA (mean  $\kappa_{WM} = 0.8593$ ) over ANTs-FA (mean  $\kappa_{WM} = 0.8282$ ). The distribution of white matter  $\kappa$  for DTI-TK appears more gaussian than the skewed distributions of the FA-driven methods. COV was consistently lower in the DTI-TK pipeline

whereas ANTs-FA and FSL-FA yielded similar results except for FA COV where FSL-FA showed lower values. Suppl. Figs. 5.1-3 show a mosaic of the coregistered images for all three pipelines.

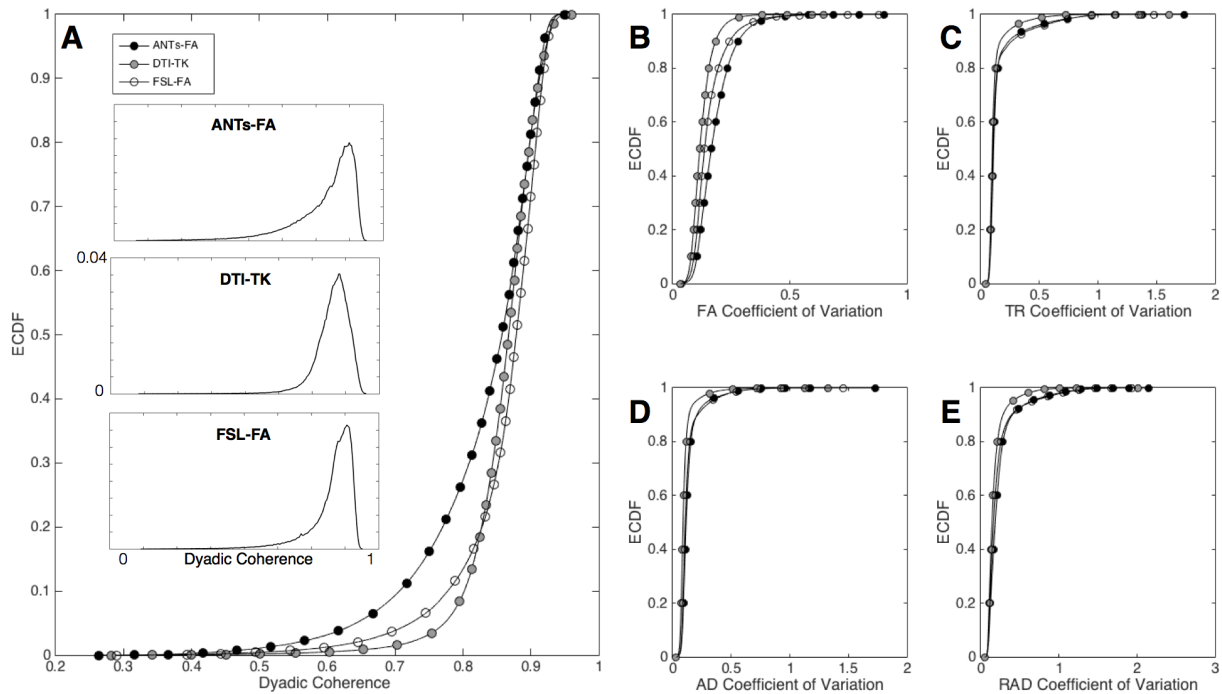


Figure 5.2. : (a) Empirical cumulative distribution functions (ECDF) of the dyadic coherence ( $\kappa$ ) and the coefficient of variation (COV) of four scalar diffusion indexes: FA, TR, AD, and RAD (b-e). These voxelwise metrics were computed for the white matter, defined as voxels with FA > 0.4. The ECDF is a normalized cumulative histogram with the y-axis representing the fraction of voxels having a value lower or equal to the corresponding x-axis abscissa. The insets represent the histograms of  $\kappa$  for the three pipelines and share the same axes.

Table 5.2. : TBSS and VBA p-value results. Minimum p-value found in the statistical image for each test contrast, data type and normalization pipeline. If the minimum p-value is smaller than 0.05, it means there are regions with significant differences, otherwise there are none. \* $p < 0.05$ ; (\*)  $0.05 < p < 0.1$ . L = LPS ; S = SHAM.

		TBSS		VBA	
		L > S	L < S	L > S	L < S
<b>ANTs-FA</b>	FA	0.51	0.14	0.38	0.11
	AD	0.87	<b>0.04*</b>	0.56	0.08 <sup>(*)</sup>
	RAD	0.82	0.39	0.60	0.17
	TR	0.97	0.15	0.57	0.19
<b>DTI-TK</b>	FA	0.36	0.15	0.26	0.15
	AD	0.86	0.06 <sup>(*)</sup>	0.54	0.08 <sup>(*)</sup>
	RAD	0.83	0.29	0.76	0.15
	TR	0.86	0.21	0.73	0.22
<b>FSL-FA</b>	FA	0.49	0.15	0.33	0.07 <sup>(*)</sup>
	AD	0.92	<b>0.03*</b>	0.62	0.09 <sup>(*)</sup>
	RAD	0.78	0.41	0.46	0.14
	TR	0.95	0.14	0.60	0.2

#### 5.4.2 VBA

Table 5.2 summarizes results of the TBSS and VBA analyses for FA, AD, RAD, and TR. VBA found no statistically significant differences. Although, there seemed to be a trend toward significance for a reduced axial diffusivity in the LPS group for all three methods as well as a reduced FA for the FSL-FA pipeline. The maps were anatomically consistent through all methods.



Fig. 5.3(a) shows the VBA output of all three pipelines for the AD data when testing LPS < SHAM. These results suggested a decrease of AD in the ipsilateral external capsule (EC) at the level of the injection (slice level 1). However, in the more posterior slices (slice levels 2-3), the changes were more significant in the contralateral part of the EC.

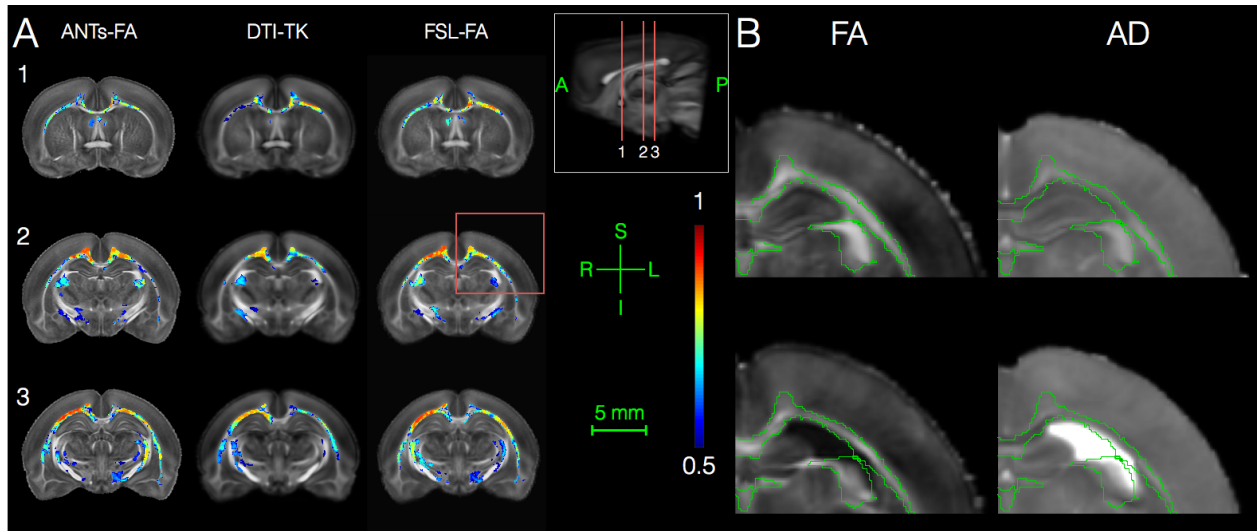


Figure 5.3. : (a) VBA statistical images of the AD for the contrast LPS < SHAM. The statistical images are superposed to their corresponding FA template in stereotaxic space<sup>37</sup>. These show an excellent anatomical match across methods. Note how the significance is here lower on the ipsilateral side on the two bottom rows. (b) Zoom in the region enclosed by the red square. The top row shows the FA and AD of a typical sham subject. The same images are displayed in the bottom row for an LPS subject. The mean white matter mask used for the analysis is depicted by the green outline. These two images show that the smoothing will have different effects in the regions around the dilated ventricles.

### 5.4.3 TBSS

A significant AD decrease in the LPS group has been found in the ANTs-FA and FSL-FA pipelines. This decrease was found in the ipsilateral (left) forceps minor of the corpus callosum, the ipsilateral side of the corpus callosum (CC) anteriorly to the hippocampus, the ipsilateral cingulum, and in the ipsilateral EC for both pipelines. In the FSL-FA pipeline, the differences in the EC ranged throughout most of the brain, starting at a level anterior to the anterior commissure up to the forceps major of the CC. For the ANTs-FA pipeline, the effect started only at the level of

the hippocampus. These results are presented in Fig. 5.4. As seen with VBA, there was great anatomical coherence in the statistical output for all 3 pipelines.

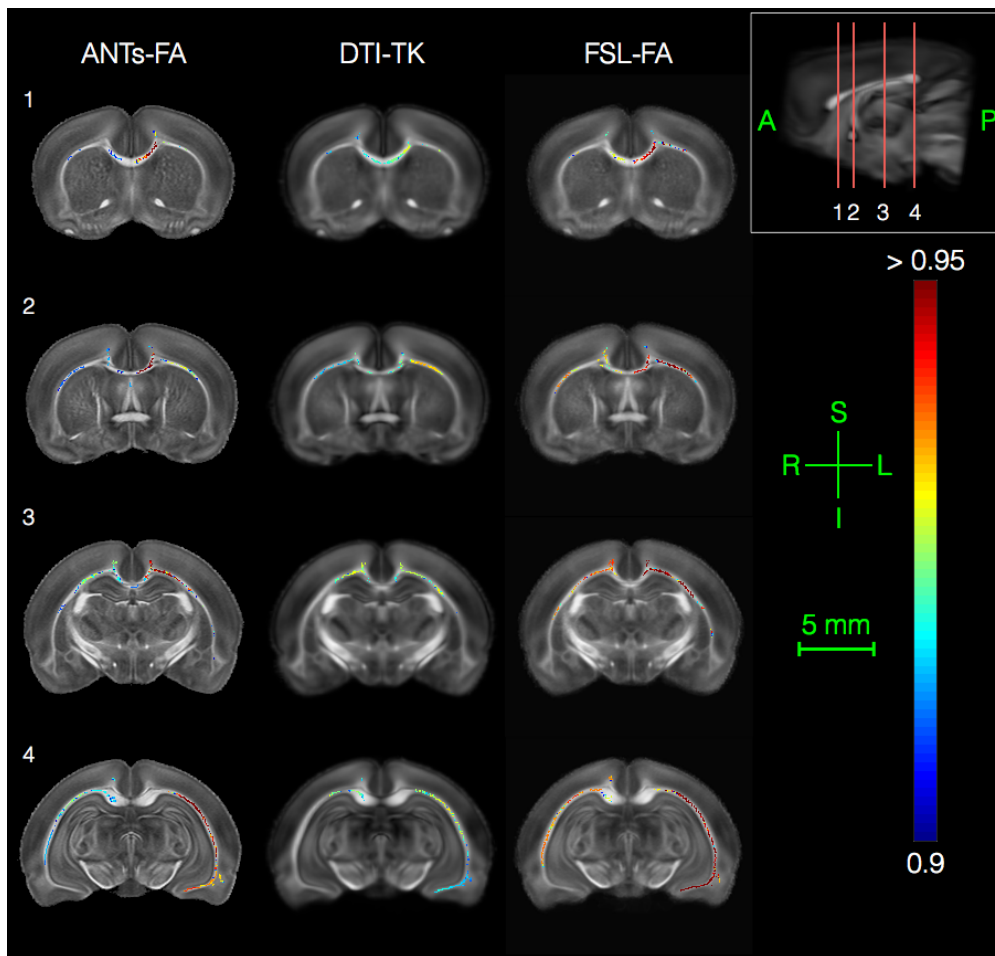


Figure 5.4. : TBSS statistical images of axial diffusivity (AD) for the contrast LPS < SHAM. The statistical images are superposed to their corresponding FA template in stereotaxic space<sup>37</sup>.

The impact of TBSS projection step is studied in Fig. 5.5. It shows the ECDF of the dyadic coherence and FA COV in the skeleton before and after projection. For all three pipelines, the ECDF of the dyadic coherence shifted to the left after projection, indicating a lower degree of alignment in the first eigenvector. On the other hand, the FA coefficient of variation was improved for all three methods, which showed a higher correspondence in FA values across subjects. The skeletons in each subject space, presented in Fig. 5.5(b), show that for all three pipelines the projection successfully respected the anatomy of each subject in main white matter tracts. The DTI-TK pipeline seemed to perform better in regions where tracts were less well-defined. This is stressed by the red boxes centered on the external medullary lamina. For both ANTs-FA and FSL-

FA the projected voxels were not connected and projection was noisy. In the DTI-TK pipeline, the projected voxels formed a single, connected line (Fig. 5.5(b)).

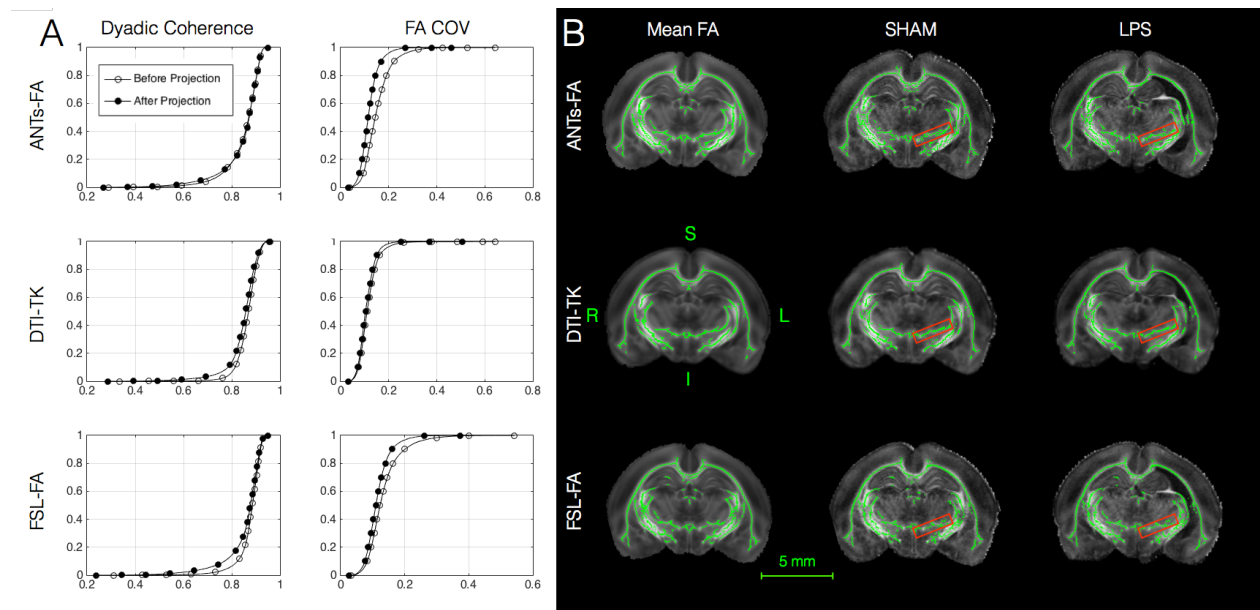


Figure 5.5. : Effect of the TBSS projection step. (a) Effect of the projection on the quality of the normalization as assessed by the dyadic coherence and the FA coefficient of variation. Data before projection are obtained when using the mean FA skeleton simply as a mask. (b) In the first column, mean FA skeleton superimposed on the mean FA for all three pipelines. The second and third columns show the voxels projected onto the mean FA skeleton for one SHAM and one LPS subject.

## 5.5 Discussion

The present study demonstrated that combining automated whole-brain analysis methods with high-quality normalization yields coherent and stable results in an animal model of PVL with large deformations. The study aimed at assessing the impact of the normalization. Here, we showed that the normalization marginally affected the results.

### 5.5.1 Template construction

The templates dictate the ability of the registration to preserve key anatomical details. The sharp appearance of the ANTs-FA template allows to discern adjacent white matter tract and is due to the shape and appearance updates implemented in the construction procedure. The DTI-TK and FSL-FA pipelines do not include such complex template updates. Nevertheless, the use of the 6

tensor components allows the DTI-TK template to present this clear distinction of adjacent tracts in spite of its more blurred appearance. The FSL-FA template does not present this advantage and some frontiers are therefore less well defined.

### 5.5.2 Registration algorithm

FNIRT can be too computationally intensive when sample size increases. In the study-specific template construction approach implemented in this paper, the computation requires  $O(n^2)$  registrations whereas the other two pipelines require only  $O(n)$  registrations. Furthermore, FNIRT registration is driven by the SSD metric. This metric minimizes the data set voxelwise variance, and when voxelwise statistical testing (as in VBA) is conducted on the same data set as the one used to drive the registration, a circularity (or non-independence) bias between registration and statistical testing is introduced<sup>42</sup>. Since this was demonstrated when considering a Student t-test, one might think that using a non-parametrical testing approach (as in this study) might alleviate the bias. However, our data suggests that this effect is still present (see Table 5.2).

ANTs yielded generally good coregistration, though some non-anatomical local deformations were observed in subjects that presented the largest ventricle dilatations. This is a direct effect of the neighbourhood cross-correlation metric. A global metric such as mutual information could perhaps have been better suited to our problem here.

In the end, DTI-TK, which was purposely developed for DTI data, might be the more suitable approach for our DTI data set normalization. Indeed, it demonstrated robust registration performance, in terms of COV and  $\kappa$ , even in the presence of large deformations, and allowed a better, less noisy projection for TBSS.

### 5.5.3 Voxel-based DTI analyses

In VBA, the smoothing caused some regions to artificially reach higher significance levels. Indeed, the unilateral ventricle dilatation on the ipsilateral side contaminates the voxels in the adjacent external capsule via smoothing (Fig. 5.3(b)). This causes a substantial AD increase in the LPS group, ultimately lowering VBA sensitivity on the ipsilateral side (Fig. 5.3(a)). The same is observed for the FA when testing for LPS < SHAM. Here, the smoothing amplifies the difference between the groups by strongly reducing the FA in the EC (Suppl. Fig. 5.4). Further study of the data showed that smoothing caused some voxels of the ipsilateral EC, in an LPS subject, to have

an FA decrease  $> 25\%$ . Nonetheless, in other situations, VBA might be a more appropriate method to study DTI data. There is much to gain from analysing the entire white matter, especially with a high-resolution data set for which the loss of information due to the skeletisation is bigger. A recent study has demonstrated higher sensitivity and specificity of VBA over TBSS using simulated effects on human data sets<sup>14</sup>. However, the authors did not consider the impact of the smoothing extent, which has been established to impact the detected effect size<sup>8</sup>. Also, by using an anisotropic adaptive smoothing kernel<sup>43</sup> instead of an isotropic one, the partial volume effect could be better controlled<sup>44</sup>.

In TBSS, the projection was introduced to correct for residual misalignments, however it only marginally does so<sup>10</sup>. In our study, it proved detrimental for both registration and interpretability in some regions. For example, the optical tracts adjacent to the internal capsule (IC) found some of its voxels take values from IC voxels (Suppl. Fig. 5.5). Despite its limitations, the projection allowed to robustly study the main white matter tracts and successfully adapted the shape of the skeleton to each individual white matter structure. This makes TBSS more fit for studies with large deformations as it allows some flexibility towards local shape differences. Moreover, in rodents, white matter is mainly composed of well-defined tracts that normally do not present a high inter-subject variability in shape. This allows the mean FA skeleton to reliably represent those tracts for all subjects.

## 5.6 Conclusion

The improved registration obtained by the use of study-specific templates and state-of-the-art algorithms allows stable and coherent results from voxel-based DTI analyses. However, we cannot know whether the differences in significance between pipelines are due simply to better sensitivity of a technique over another or of better sensitivity at the cost of lower specificity. A study using simulated data would allow to answer these questions and would benefit the community. Both VBA and TBSS are good methods for the analysis of DTI data. However, the user should always be aware of the limitations from each technique: smoothing for VBA and skeleton projection for TBSS.

## 5.7 Acknowledgments

This work was supported in part by CIHR, Institute of Human Development, Child and

Youth Health (IHDCYH) (Grants #126790 and #136908), the Fonds de recherche en santé du Québec (FRQS), the University of Montréal, the Research Center of Ste-Justine Hospital and NSERC Discovery Grant, RGPIN-2014-06089.

## 5.8 References

- [1] P. J. Basser, J. Mattiello, and D. LeBihan, "Estimation of the effective self-diffusion tensor from the NMR spin echo," *J Magn Reson B*, vol. 103, no. 3, pp. 247-54, Mar, 1994.
- [2] P. J. Basser, and C. Pierpaoli, "Microstructural and physiological features of tissues elucidated by quantitative-diffusion-tensor MRI," *J Magn Reson B*, vol. 111, no. 3, pp. 209-19, Jun, 1996.
- [3] S. K. Song, J. Yoshino, T. Q. Le *et al.*, "Demyelination increases radial diffusivity in corpus callosum of mouse brain," *Neuroimage*, vol. 26, no. 1, pp. 132-40, May 15, 2005.
- [4] S. Wang, E. X. Wu, K. Cai *et al.*, "Mild hypoxic-ischemic injury in the neonatal rat brain: longitudinal evaluation of white matter using diffusion tensor MR imaging," *AJNR Am J Neuroradiol*, vol. 30, no. 10, pp. 1907-13, Nov, 2009.
- [5] J. Ashburner, and K. J. Friston, "Voxel-based morphometry - The methods," *Neuroimage*, vol. 11, no. 6, pp. 805-821, Jun, 2000.
- [6] F. L. Bookstein, "'Voxel-based morphometry" should not be used with imperfectly registered images," *Neuroimage*, vol. 14, no. 6, pp. 1454-62, Dec, 2001.
- [7] H. J. Park, C. F. Westin, M. Kubicki *et al.*, "White matter hemisphere asymmetries in healthy subjects and in schizophrenia: a diffusion tensor MRI study," *Neuroimage*, vol. 23, no. 1, pp. 213-23, Sep, 2004.
- [8] D. K. Jones, M. R. Symms, M. Cercignani *et al.*, "The effect of filter size on VBM analyses of DT-MRI data," *Neuroimage*, vol. 26, no. 2, pp. 546-54, Jun, 2005.
- [9] S. M. Smith, M. Jenkinson, H. Johansen-Berg *et al.*, "Tract-based spatial statistics: voxelwise analysis of multi-subject diffusion data," *Neuroimage*, vol. 31, no. 4, pp. 1487-505, Jul 15, 2006.

- [10] A. Zalesky, "Moderating registration misalignment in voxelwise comparisons of DTI data: a performance evaluation of skeleton projection," *Magnetic Resonance Imaging*, vol. 29, no. 1, pp. 111-125, Jan, 2011.
- [11] M. Bach, F. B. Laun, A. Leemans *et al.*, "Methodological considerations on tract-based spatial statistics (TBSS)," *Neuroimage*, vol. 100, pp. 358-69, Oct 15, 2014.
- [12] G. Ball, S. J. Counsell, M. Anjari *et al.*, "An optimised tract-based spatial statistics protocol for neonates: applications to prematurity and chronic lung disease," *Neuroimage*, vol. 53, no. 1, pp. 94-102, Oct 15, 2010.
- [13] S. Keihaninejad, N. S. Ryan, I. B. Malone *et al.*, "The Importance of Group-Wise Registration in Tract Based Spatial Statistics Study of Neurodegeneration: A Simulation Study in Alzheimer's Disease," *Plos One*, vol. 7, no. 11, Nov 6, 2012.
- [14] C. G. Schwarz, R. I. Reid, J. L. Gunter *et al.*, "Improved DTI registration allows voxel-based analysis that outperforms Tract-Based Spatial Statistics," *Neuroimage*, vol. 94, pp. 65-78, Jul 1, 2014.
- [15] T. Ruest, W. M. Holmes, J. A. Barrie *et al.*, "High-resolution diffusion tensor imaging of fixed brain in a mouse model of Pelizaeus-Merzbacher disease: comparison with quantitative measures of white matter pathology," *NMR Biomed*, vol. 24, no. 10, pp. 1369-79, Dec, 2011.
- [16] A. Sierra, T. Laitinen, K. Lehtimaki *et al.*, "Diffusion tensor MRI with tract-based spatial statistics and histology reveals undiscovered lesioned areas in kainate model of epilepsy in rat," *Brain Struct Funct*, vol. 216, no. 2, pp. 123-35, Jun, 2011.
- [17] A. Gozzi, F. Agosta, M. Massi *et al.*, "Reduced limbic metabolism and fronto-cortical volume in rats vulnerable to alcohol addiction," *Neuroimage*, vol. 69, pp. 112-9, Apr 1, 2013.
- [18] S. Hofstetter, I. Tavor, S. Tzur Moryosef *et al.*, "Short-term learning induces white matter plasticity in the fornix," *J Neurosci*, vol. 33, no. 31, pp. 12844-50, Jul 31, 2013.
- [19] O. Manninen, P. Koskenkorva, K. K. Lehtimaki *et al.*, "White matter degeneration with Unverricht-Lundborg progressive myoclonus epilepsy: a translational

- diffusion-tensor imaging study in patients and cystatin B-deficient mice,” *Radiology*, vol. 269, no. 1, pp. 232-9, Oct, 2013.
- [20] O. Manninen, T. Laitinen, K. K. Lehtimäki *et al.*, “Progressive volume loss and white matter degeneration in *cstb*-deficient mice: a diffusion tensor and longitudinal volumetry MRI study,” *PLoS One*, vol. 9, no. 6, pp. e90709, 2014.
- [21] A. Pfefferbaum, N. M. Zahr, D. Mayer *et al.*, “Dynamic responses of selective brain white matter fiber tracts to binge alcohol and recovery in the rat,” *PLoS One*, vol. 10, no. 4, pp. e0124885, 2015.
- [22] N. G. Harris, D. R. Verley, B. A. Gutman *et al.*, “Bi-directional changes in fractional anisotropy after experiment TBI: Disorganization and reorganization?,” *Neuroimage*, vol. 133, pp. 129-43, Jun, 2016.
- [23] A. Klein, J. Andersson, B. A. Ardekani *et al.*, “Evaluation of 14 nonlinear deformation algorithms applied to human brain MRI registration,” *Neuroimage*, vol. 46, no. 3, pp. 786-802, Jul 1, 2009.
- [24] H. Zhang, B. B. Avants, P. A. Yushkevich *et al.*, “High-dimensional spatial normalization of diffusion tensor images improves the detection of white matter differences: an example study using amyotrophic lateral sclerosis,” *IEEE Trans Med Imaging*, vol. 26, no. 11, pp. 1585-97, Nov, 2007.
- [25] Y. Wang, A. Gupta, Z. Liu *et al.*, “DTI registration in atlas based fiber analysis of infantile Krabbe disease,” *Neuroimage*, vol. 55, no. 4, pp. 1577-86, Apr 15, 2011.
- [26] H. J. Park, M. Kubicki, M. E. Shenton *et al.*, “Spatial normalization of diffusion tensor MRI using multiple channels,” *Neuroimage*, vol. 20, no. 4, pp. 1995-2009, Dec, 2003.
- [27] Z. Cai, Y. Pang, S. Lin *et al.*, “Differential roles of tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-1  $\beta$  in lipopolysaccharide-induced brain injury in the neonatal rat,” *Brain Res*, vol. 975, no. 1-2, pp. 37-47, Jun 13, 2003.
- [28] Y. Pang, Z. Cai, and P. G. Rhodes, “Disturbance of oligodendrocyte development, hypomyelination and white matter injury in the neonatal rat brain after intracerebral



- injection of lipopolysaccharide,” *Brain Res Dev Brain Res*, vol. 140, no. 2, pp. 205-14, Feb 16, 2003.
- [29] S. T. Ramachandra R, *Atlas of the Neonatal Rat Brain*, 1st edn. ed.: CRC Press, Boca Raton, FL, 2011.
- [30] G. A. Lodygensky, N. Kunz, E. Perroud *et al.*, “Definition and quantification of acute inflammatory white matter injury in the immature brain by MRI/MRS at high magnetic field,” *Pediatr Res*, vol. 75, no. 3, pp. 415-23, Mar, 2014.
- [31] H. Zhang, P. A. Yushkevich, D. C. Alexander *et al.*, “Deformable registration of diffusion tensor MR images with explicit orientation optimization,” *Med Image Anal*, vol. 10, no. 5, pp. 764-85, Oct, 2006.
- [32] V. Arsigny, P. Fillard, X. Pennec *et al.*, “Log-Euclidean metrics for fast and simple calculus on diffusion tensors,” *Magn Reson Med*, vol. 56, no. 2, pp. 411-21, Aug, 2006.
- [33] D. C. Alexander, C. Pierpaoli, P. J. Basser *et al.*, “Spatial transformations of diffusion tensor magnetic resonance images,” *Ieee Transactions on Medical Imaging*, vol. 20, no. 11, pp. 1131-1139, Nov, 2001.
- [34] B. B. Avants, P. Yushkevich, J. Pluta *et al.*, “The optimal template effect in hippocampus studies of diseased populations,” *Neuroimage*, vol. 49, no. 3, pp. 2457-2466, Feb 1, 2010.
- [35] M. Jenkinson, P. Bannister, M. Brady *et al.*, “Improved optimization for the robust and accurate linear registration and motion correction of brain images,” *Neuroimage*, vol. 17, no. 2, pp. 825-41, Oct, 2002.
- [36] J. L. Andersson, M. Jenkinson, and S. Smith, “Non-linear registration, aka Spatial normalisation FMRIB technical report TR07JA2,” *FMRIB Analysis Group of the University of Oxford*, vol. 2, 2007.
- [37] E. Calabrese, and G. A. Johnson, “Diffusion tensor magnetic resonance histology reveals microstructural changes in the developing rat brain,” *Neuroimage*, vol. 79, pp. 329-39, Oct 1, 2013.

- [38] T. E. Nichols, and A. P. Holmes, "Nonparametric permutation tests for functional neuroimaging: A primer with examples," *Human Brain Mapping*, vol. 15, no. 1, pp. 1-25, Jan, 2002.
- [39] A. M. Winkler, G. R. Ridgway, M. A. Webster *et al.*, "Permutation inference for the general linear model," *Neuroimage*, vol. 92, pp. 381-397, May 15, 2014.
- [40] S. M. Smith, and T. E. Nichols, "Threshold-free cluster enhancement: Addressing problems of smoothing, threshold dependence and localisation in cluster inference," *Neuroimage*, vol. 44, no. 1, pp. 83-98, Jan 1, 2009.
- [41] D. K. Jones, L. D. Griffin, D. C. Alexander *et al.*, "Spatial normalization and averaging of diffusion tensor MRI data sets," *Neuroimage*, vol. 17, no. 2, pp. 592-617, Oct, 2002.
- [42] N. J. Tustison, B. B. Avants, P. A. Cook *et al.*, "Logical circularity in voxel-based analysis: Normalization strategy may induce statistical bias," *Human Brain Mapping*, vol. 35, no. 3, pp. 745-759, 2014.
- [43] J. Sijbers, A. J. den Dekker, A. Van der Linden *et al.*, "Adaptive anisotropic noise filtering for magnitude MR data," *Magnetic resonance imaging*, vol. 17, no. 10, pp. 1533-1539, 1999.
- [44] W. Van Hecke, A. Leemans, S. De Backer *et al.*, "Comparing isotropic and anisotropic smoothing for voxel-based DTI analyses: A simulation study," *Hum Brain Mapp*, vol. 31, no. 1, pp. 98-114, Jan, 2010.

## 5.9 Supplementary Material

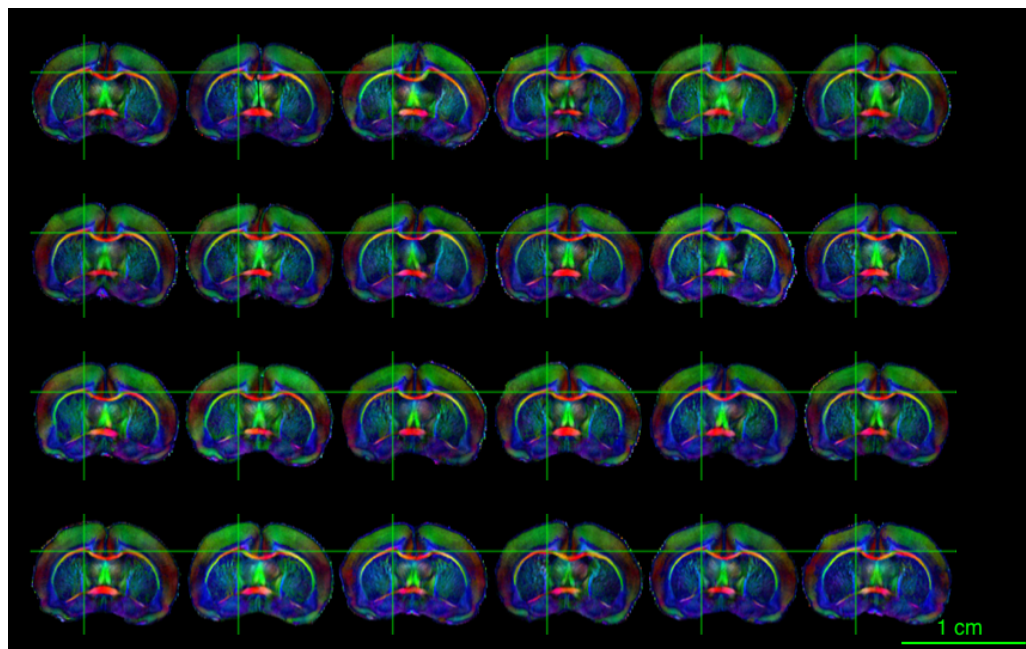


Figure Supplémentaire 5.1. : Color-coded FA images for one coronal slice of the 24 data sets co-registered to the ANTs-FA template.

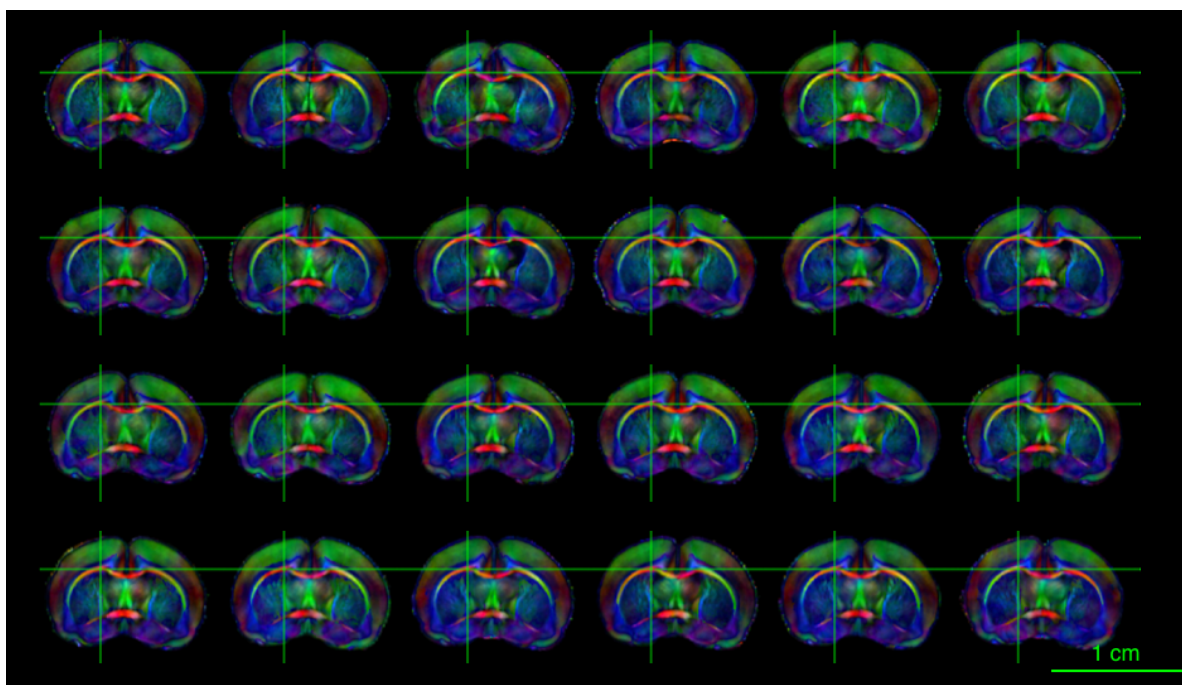


Figure Supplémentaire 5.2. : Color-coded FA images for one coronal slice of the data sets co-registered to the DTI-TK template.

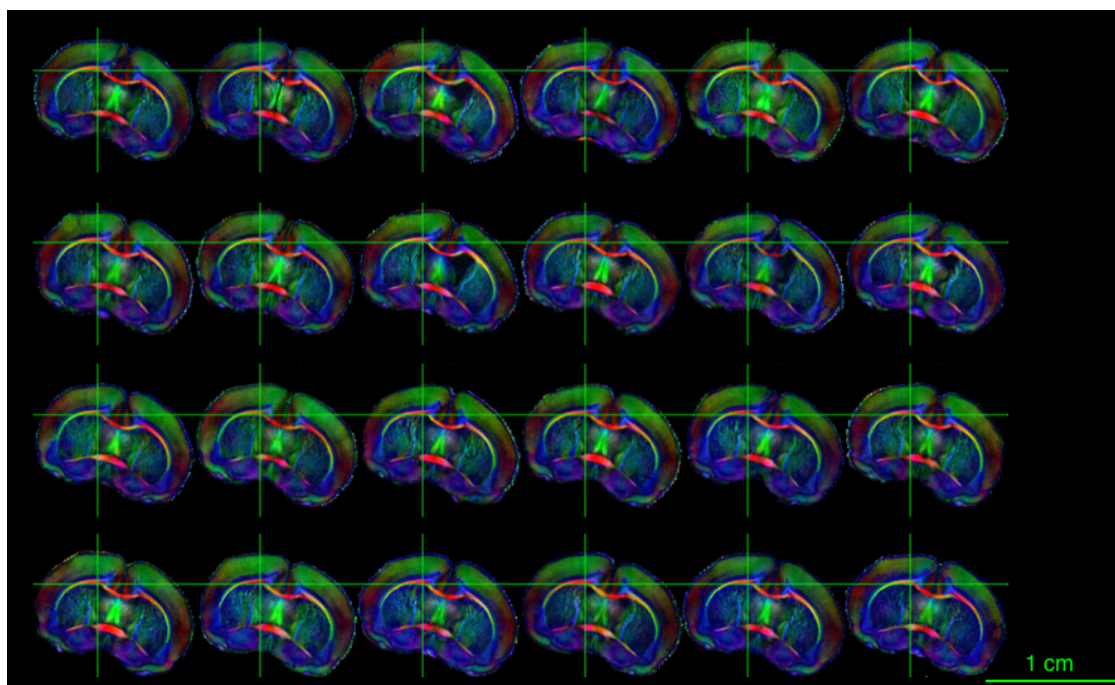


Figure Supplémentaire 5.3. : Color-coded FA images for one coronal slice of the data sets co-registered to the FSL-FA template.

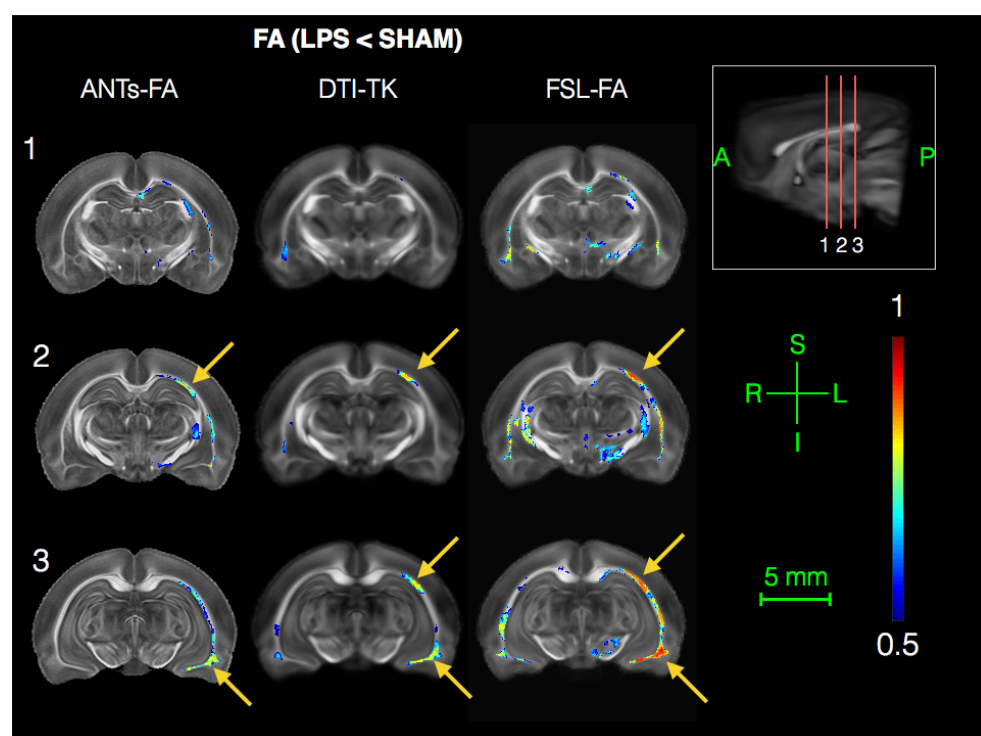


Figure Supplémentaire 5.4. : VBA statistical images (3 coronal slices) of the fractional anisotropy (FA) for the contrast LPS < SHAM. The statistical images are superposed to their corresponding

FA template in stereotaxic space. The yellow arrows point to regions where the higher significance is caused by the aggravated partial volume effect via smoothing.

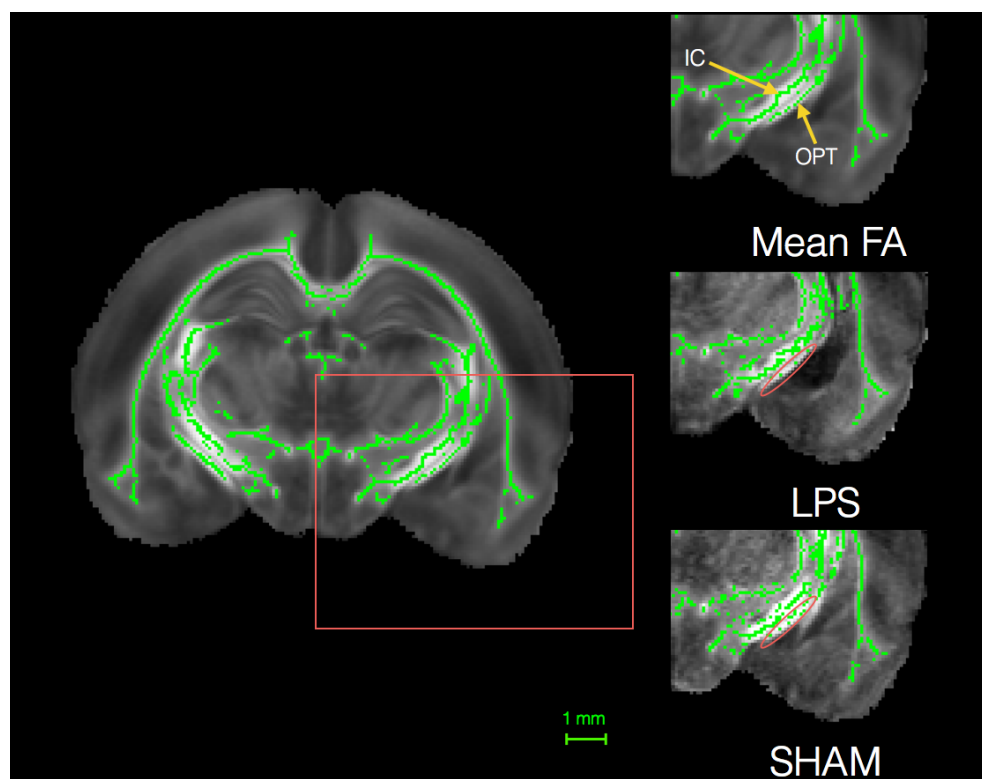


Figure Supplémentaire 5.5. : TBSS projection in two adjacent tracts: the internal capsule (IC) and the optical tract (OPT). The left image represents the mean FA skeleton upon which the voxels are projected. The skeleton is superimposed on the mean FA image.

## CHAPITRE 6 MÉTHODOLOGIES ET RÉSULTATS SUPPLÉMENTAIRES POUR LES DONNÉES *EX VIVO* À P24

Ce chapitre fait part de résultats supplémentaires de l'analyse des données de diffusion *ex vivo*. Notamment, l'impact de la réaction inflammatoire sur le volume hippocampal a été étudié. En effet, une diminution du volume des hippocampes dans le groupe ayant subi une injection de LPS a été reportée par plusieurs études sur ce modèle animal (Fan et al., 2005; Fan et al., 2008; Wang et al., 2013). Le modèle est également caractérisé par une forte ventriculo-mégalie (Cai *et al.*, 2003 ; Pang *et al.*, 2003 ; Fan *et al.*, 2005 ; Fan *et al.*, 2008 ; Wang *et al.*, 2013). Une mesure du volume partiel des ventricules latéraux a été effectuée dans le but de quantifier l'effet du LPS sur la dilatation des ventricules. Finalement, une analyse par histogramme a été conduite sur la matière blanche afin d'identifier si la lésion était assez diffuse que pour être détectée par cette approche non-localisée.

### 6.1 Segmentation et mesure du volume de l'hippocampe

Une segmentation des hippocampes gauche et droit a été réalisée sur tous les sujets des données *ex vivo*. La délimitation s'est basée sur l'atlas du cerveau de rat dans l'espace Waxholm (cf. tableau 2.2), et plus précisément sur la segmentation détaillée de l'hippocampe publiée dans (Kjonigsen et al., 2015). L'ensemble des régions de la formation hippocampale a été considéré comme l'"hippocampe". Ces régions sont le *dentate gyrus*, les *cornu ammonis* (CA1, CA2, CA3), le *subiculum* et le *fasciola cinereum* (cf. annexe A). Les régions para-hippocampales telles que le pre- et para-hippocampus sont donc exclues de la région segmentée. Des tests de Mann-Whitney pour les hippocampes ipsilatéraux et controlatéraux ont été conduits entre les deux groupes. Les variances ont été testées par un test de Bartlett. Ce test a été choisi car il est plus robuste que le F-test lorsque l'hypothèse de normalité n'est pas respectée. Finalement, un test païré de Wilcoxon entre hippocampes ipsilatéral et controlatéral a été réalisé pour les deux groupes.

#### *Résultats*

La figure 6.1 présente la segmentation des hippocampes sur un sujet sain. Les résultats de la mesure du volume sont présentés à la figure 6.2 sous forme de box plot. Aucune différence

significative entre les moyennes des deux groupes n'a été trouvée, ni pour l'hippocampe ipsilatéral ni pour le controlatéral. Le test de Bartlett a cependant mis en évidence une différence en variance pour les hippocampes ipsi- et controlatéraux. Le test de Wilcoxon a également mis en évidence une différence significative entre les 2 hippocampes dans le groupe sham. Les résultats sont repris dans le tableau 6.1.

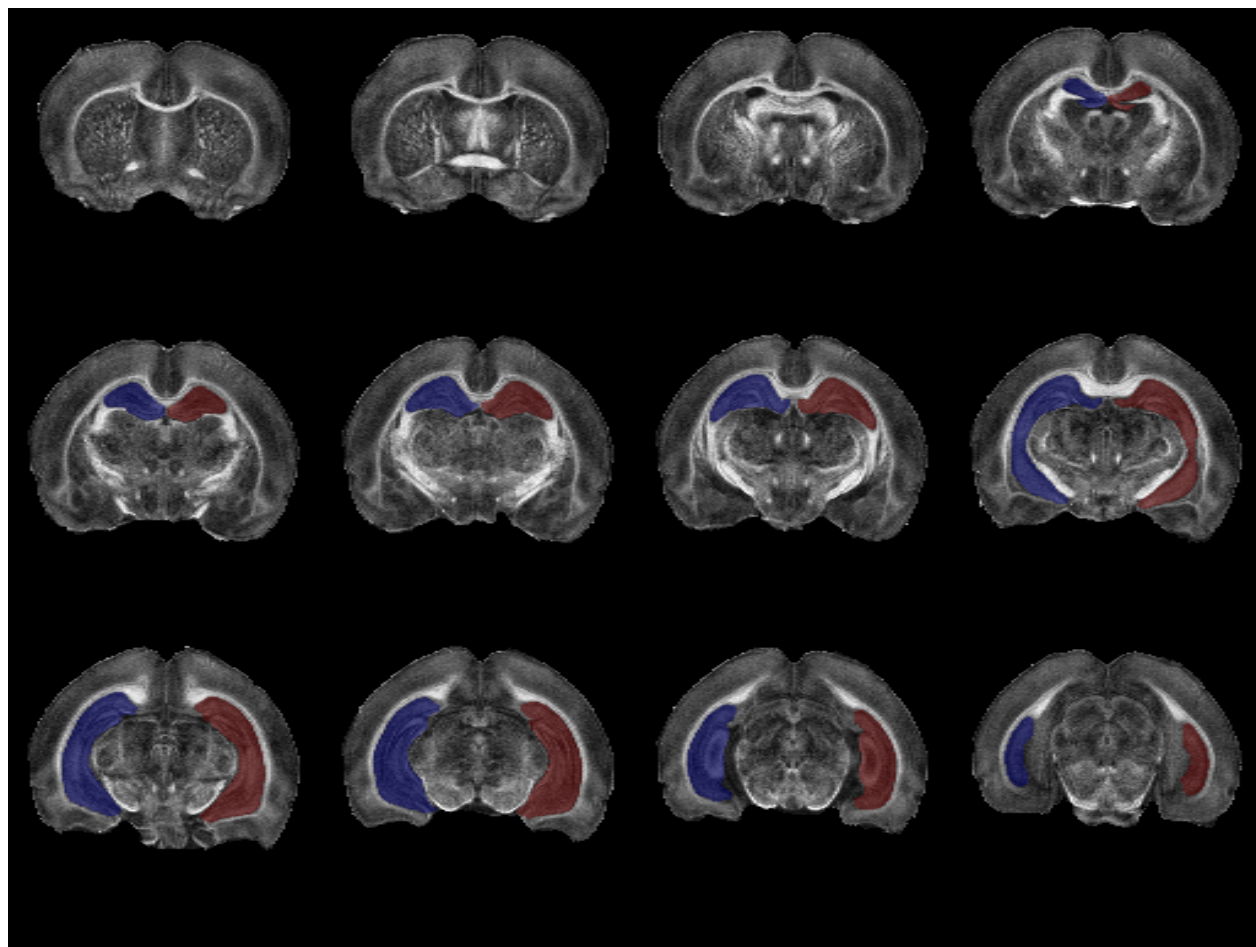


Figure 6.1. : Segmentation de l'hippocampe chez un sujet sham à P24. En bleu, la segmentation de l'hippocampe droit (controlatéral à l'injection), en rouge celle de l'hippocampe gauche (ipsilatéral à l'injection).



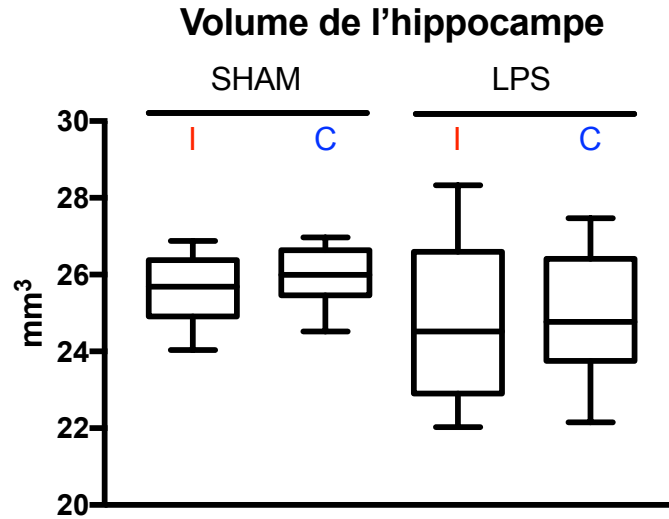


Figure 6.2. : Box plot du volume des hippocampes gauche et droit entre le groupe sham et LPS. I = Ipsilatéral; C = Controlatéral. Le code couleur fais référence à la figure 5.1.

Tableau 6.1. : Moyennes et variances du volume des hippocampes et résultats des tests de Mann-Whitney, Barlett et Wilcoxon. \* :  $p < 0.05$  ; \*\* :  $p < 0.01$  ; \*\*\* :  $p < 0.001$  ;

<i>Données</i>	Hippocampe Ipsilatéral		Hippocampe controlatéral	
	Sham	LPS	Sham	LPS
Moyenne (mm <sup>3</sup> )	25.6	24.76	25.99	24.89
Variance	0.84134	1.9835	0.70119	1.67329
<i>Sham vs LPS</i>	Hippocampe Ipsilatéral		Hippocampe controlatéral	
Mann-Whitney (moyenne)	0.2189		0.1036	
Bartlett (variance)	0.0084**		0.00762**	
<i>Ipsilatéral vs Controlatéral</i>	Sham		LPS	
Wilcoxon (moyenne, pairé)	0.0342*		0.7910	
Coefficient de Spearman	0.5874		0.9441	

## 6.2 Segmentation et mesure du volume partiel des ventricules latéraux

La segmentation des ventricules est délicate car ceux-ci peuvent être assez petit que pour être indiscernable à la résolution de nos images. Afin de limiter les erreurs de segmentation, les ventricules latéraux ont été segmentés antérieurement au fornix et la commissure antérieure où ils



sont le plus aisément identifiables. Bien qu'incomplète, cette mesure permet tout de même de représenter le volume total. En effet, l'augmentation en volume du compartiment ventriculaire suite à la pression liquidienne se fait similairement pour chaque animal. En d'autres mots, pour une même dilatation volumique, la proportion dilatée antérieurement au fornix devrait être semblable pour chaque individu. De plus, l'ampleur des dilatations permet de telles approximations.

Les données ont été analysées similairement à celle de l'hippocampe. Un test de Mann-Whitney a été appliqué pour la comparaison des moyennes des ventricules ipsi- et controlatéraux entre les deux groupes et un test pairé de Wilcoxon a été appliqué pour comparer les ventricules ipsi- et controlatéraux au sein d'un même groupe.

Les résultats de la segmentation sont présentés à la figure 6.3 et ceux des tests statistiques au tableau 6.2.

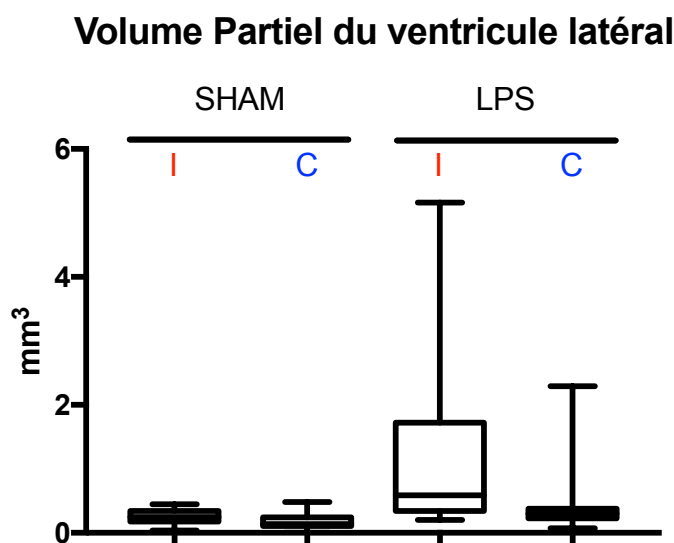


Figure 6.3. : Box plot du volume partiel des ventricules ipsi- et controlatéraux pour les groupes sham et LPS. I= Ipsilatéral; C = Controlatéral.

Tableau 6.2. : Moyennes et variances du volume partiel des ventricules latéraux et résultats des tests de Mann-Whitney et Wilcoxon. \* :  $p < 0.05$  ; \*\* :  $p < 0.01$  ; \*\*\* :  $p < 0.001$  ; (\*) :  $0.05 < p < 0.1$ .

<i>Données</i>	Ventricule Ipsilatéral		Ventricule controlatéral	
	Sham	LPS	Sham	LPS
Moyenne (mm <sup>3</sup> )	0.2606	1.166	0.206	0.4572
Variance	0.1167	1.421	0.1348	0.5913
<i>Sham vs LPS</i>	Ventricule Ipsilatéral		Ventricule controlatéral	
Mann-Whitney (moyenne)	0.0029**		0.0792 (*)	
<i>Ipsilatéral vs Controlatéral</i>	Sham		LPS	
Wilcoxon (moyenne, pairé)	0.083 (*)		0.0425*	
Coefficient de Spearman	-0.02727		0.4266	

On observe une dilatation significative du ventricule ipsilatéral dans le groupe LPS. La variance élevée du ventricule controlatéral chez les LPS suggère une tendance à se dilater mais moins prononcée que du côté ipsilatéral.

### 6.3 Analyse par histogramme

Une analyse par histogramme telle que décrite dans la section 2.4.4 a été conduite sur la matière blanche. Il a été choisi de conduire une telle analyse car elle permet d'étudier les données sans traitement préalable (sans recalage et donc sans interpolation) et de façon entièrement automatique. La matière blanche a été définie comme les voxels ayant une FA > 0.4. La position du mode de l'histogramme ainsi que sa hauteur ont été comparés entre les deux groupes pour les données de FA, AD, RAD et TR par un test de Mann-Whitney.

Aucune différence n'a été détectée.

## CHAPITRE 7 ANALYSE DES DONNÉES *IN VIVO* À P4

Dans ce chapitre, les résultats des analyses des données *in vivo* sont exposés. La première partie porte sur l'analyse des données de diffusion et la seconde sur celle des données de spectroscopie.

### 7.1 Données de l'imagerie du tenseur de diffusion

#### 7.1.1 Analyse par ROI

Des ROI ont été placées sur trois zones différentes : le corps calleux et les cingulum gauche (ipsilatéral) et droit (controlatéral) sur base de résultats précédemment publiés (Lodygensky et al., 2014). La grande disparité de la morphologie (figure 3.2) ne permet pas de tracer des ROI de taille fixe pour tous les sujets et il a donc été choisi d'adapter celle-ci au cas par cas afin de mieux circonscrire la région étudiée. Les ROI ont été placées sur deux coupes consécutives approximativement entre le niveau de l'injection et l'hippocampe. Pour un sujet, il n'a pas été possible de délimiter deux ROI sur le cingulum ipsilatéral et le nombre de ROI a été réduit à une. Selon la région, certains sujets ont dû être exclus de l'analyse à cause de saignements et artéfacts qui gênaient le positionnement de la ROI. Pour le corps calleux, 9, 7, et 6 sujets ont été inclus pour les groupes sham, LPS et LPS+IL1-Ra respectivement. Pour le cingulum ipsilatéral :  $n_{\text{sham}}=9$ ,  $n_{\text{LPS}}=5$ , et  $n_{\text{LPS+IL1-Ra}}=4$ . Et finalement pour le cingulum controlatéral :  $n_{\text{sham}}=9$ ,  $n_{\text{LPS}}=6$ , et  $n_{\text{LPS+IL1-Ra}}=6$ . Les moyennes entre les groupes ont été comparées par un test de Kruskal-Wallis pour chaque paramètre de la diffusion (FA, AD, RAD, MD). De plus, une comparaison *post-hoc* des groupes 2 à 2 (test de Dunn) a été réalisée.

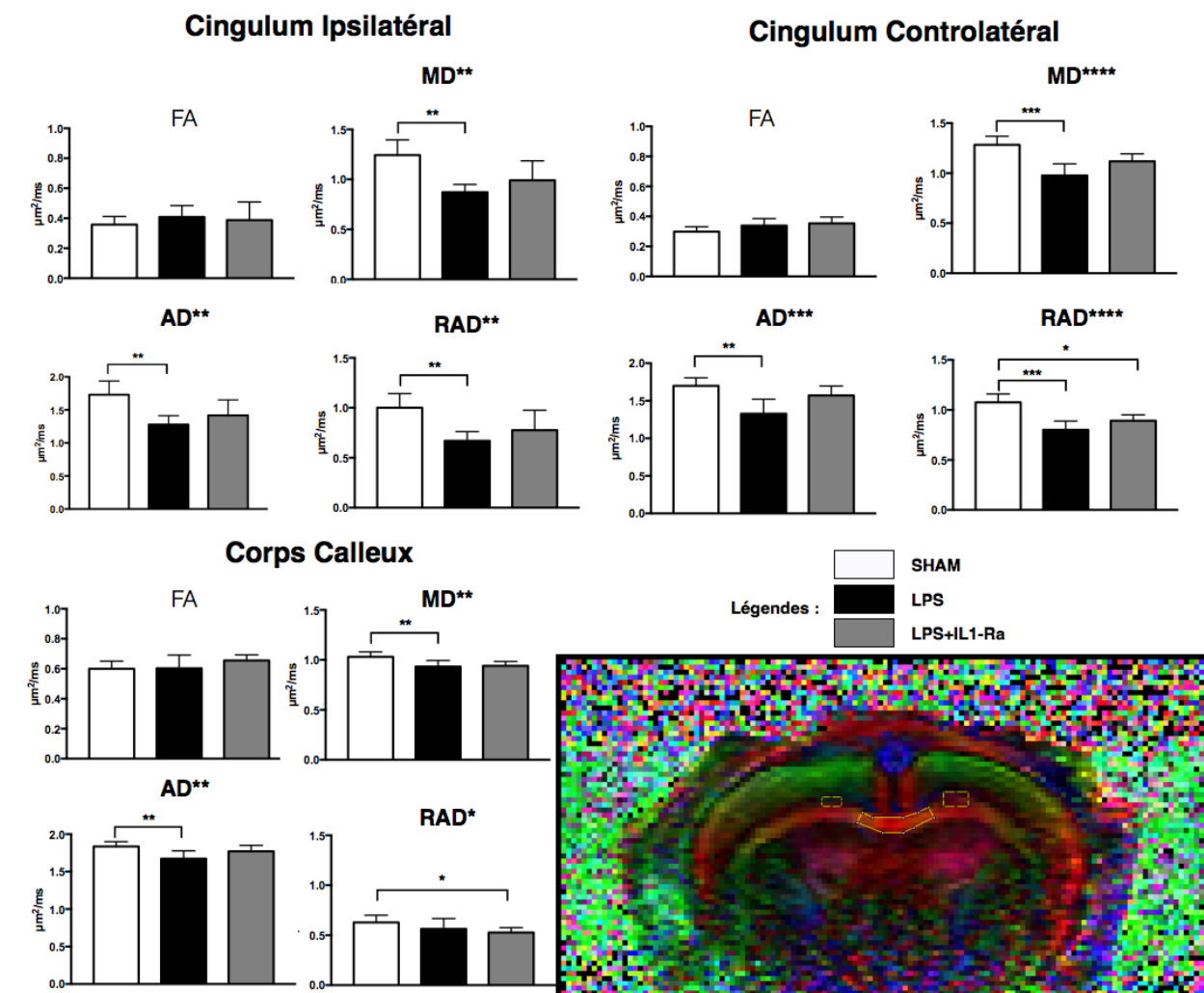


Figure 7.1. : Résultats des mesures par ROI des paramètres de diffusivité dans le corps calleux et les cingulums ipsi- et controlatéraux. L'encadré en bas à droite illustre le placement des ROI. La barre indique l'écart-type. \* :  $p < 0.05$  ; \*\* :  $p < 0.01$  ; \*\*\* :  $p < 0.001$  ; \*\*\*\* :  $p < 0.0001$ .

La figure 7.1 présente les résultats de l'analyse par ROI. Pour toutes les régions, des différences apparaissent au niveau de la diffusivité axiale, radiale et moyenne. Pour ces derniers, les tests *post-hoc* sont tous statistiquement significatifs entre les groupes sham et LPS, excepté pour la diffusivité radiale dans le corps calleux où le test *post-hoc* est significatif entre le groupe sham et LPS+IL1-Ra. Les diminutions sont les plus prononcées dans le cingulum ipsilatéral où AD, RAD et MD décroissent de 26.03 %, 33.14 %, et 29.87 % respectivement. Le cingulum controlatéral présente des diminutions de diffusivité du même ordre mais légèrement plus faibles : -21.84 %, -25.48 %, et -23.87 % pour AD, RAD, et MD respectivement. Les diminutions dans le corps calleux sont moins marquées avec une réduction de 8.88 %, 10.45 %, et 9.54 % pour AD, RAD et MD

respectivement. Pour chaque contraste, le groupe LPS+IL1-Ra présente également une diminution mais celle-ci est plus modérée que dans le groupe LPS excepté pour la RAD dans le corps calleux où celle-ci est plus marquée.

### **7.1.2 Analyse par ROI issues de la parcellisation de la matière blanche sous-corticale**

La segmentation de la matière blanche sous-corticale a été guidée par la FA, AD, MD et les images RGB. Ces dernières permettent de distinguer l'allure globale du faisceau de matière blanche. La FA offre un fort contraste matière blanche / matière grise et permet une segmentation aisée du corps calleux et des capsules externes. Les cartes AD et MD ont permis de donner des informations complémentaires, particulièrement pour la segmentation du cingulum.

Des segmentations et la parcellisation correspondante sont présentés à la figure 7.2. Les segmentations ont pu se faire correctement et entièrement (corps calleux et les deux cingulums) sur 12 des 23 sujets à l'étude. La taille des groupes est donc de 5, 3 et 4 pour les groupes sham, LPS et LPS+IL1-Ra respectivement.

Les moyennes entre les groupes ont été comparées par un test de Kruskal-Wallis pour chaque paramètre de la diffusion (FA, AD, RAD, MD) et une comparaison *post-hoc* des groupes 2 à 2 (test de Dunn) a été réalisée.

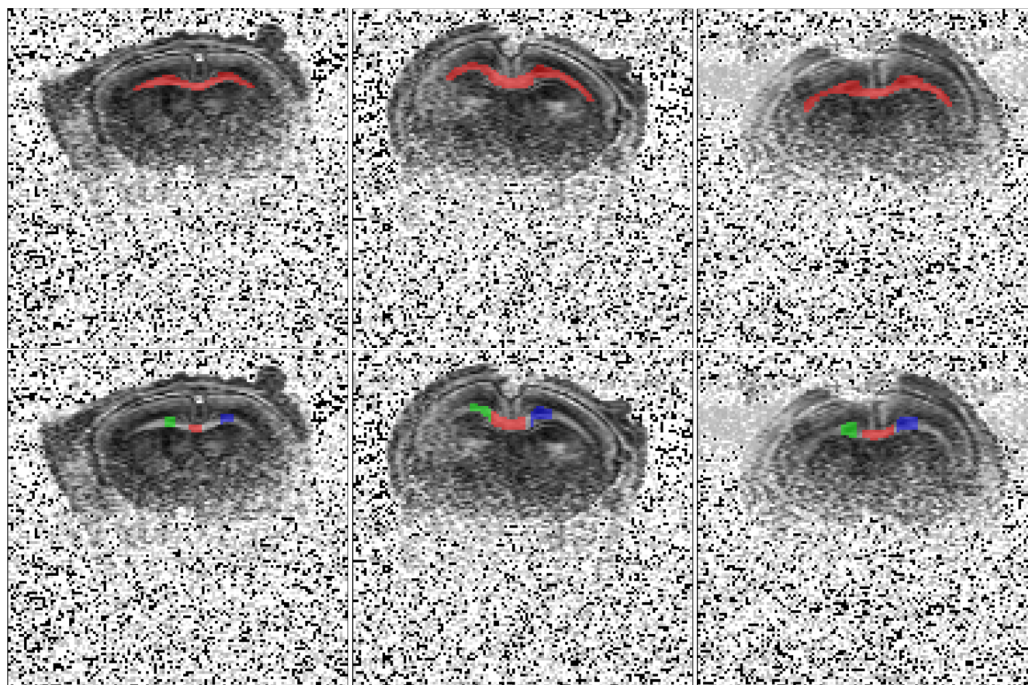


Figure 7.2. : Les segmentations initiales sont présentées sur la première rangée. La parcellisation résultante est montrée sur la deuxième rangée.

Les résultats des tests statistiques sont présentés à la figure 7.3. Similairement aux résultats par ROI classique, des différences significatives pour AD, RAD et MD ont été détectées dans les deux cingulums. Dans le corps calleux, seule la diffusivité moyenne est significativement différente entre les groupes.

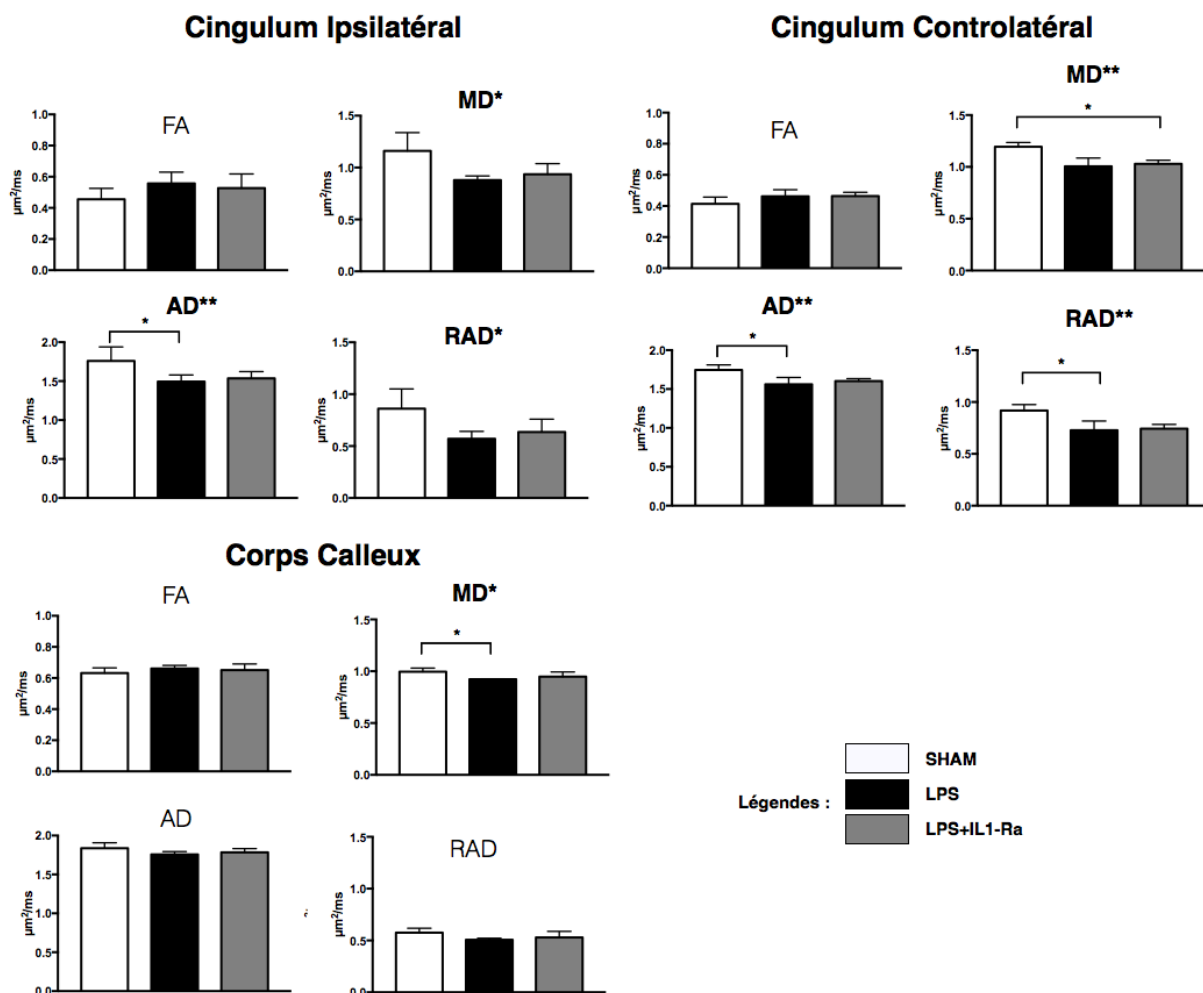


Figure 7.3. : Résultats des mesures dans les ROI, déterminées par la parcellisation automatique de la matière blanche sous-corticale, des paramètres de diffusivité dans le corps calleux et les cingulum ipsi- et controlatéraux. La barre indique l'écart-type. \* :  $p < 0.05$  ; \*\* :  $p < 0.01$  ; \*\*\* :  $p < 0.001$  ; \*\*\*\* :  $p < 0.0001$ .

Les résultats de l'analyse par ROI classique (figure 7.1) et ceux de l'analyse par parcellisation (figure 7.3) sont très semblables. Toutes les différences identifiées l'ont aussi été par l'analyse ROI classique et la tendance de réduction dans le groupe LPS et de réduction légèrement plus modérée dans le groupe LPS+IL1-Ra s'observe ici aussi.

## 7.2 Données de spectroscopie

### 7.2.1 Méthodes

L'unique paramètre à fixer pour le pipeline décrit au chapitre 4 est celui du nombre de points à supprimer au début du FID dans le domaine temporel. Le choix du nombre de points a été fixé à 4 empiriquement ce qui correspond, pour nos données, à une latence de 0.8 ms entre le début de l'acquisition et le début du FID.

L'expérience de spectroscopie est exploratoire et les métabolites d'intérêts ne sont pas connus. Les métabolites considérés dans l'analyse LCModel ont donc été déterminés empiriquement en minimisant au mieux les résidus de l'analyse LCModel. En plus des métabolites, des macromolécules ainsi que les lipides libres ont été analysés. La liste complète est présentée dans le tableau 7.1.



Tableau 7.1. : Liste des métabolites utilisés dans l'analyse LCModel

<b>Métabolite</b>		<b>Lipides</b>	
Alanine	Ala	Lipide mobile avec résonance à 0.9 ppm	Lip09
Aspartate	Asp	Lipide mobile avec résonance à 1.3 ppm	Lip13a
Créatine	Cr	Lipide mobile avec résonance à 2.0 ppm	Lip20
Phosphocréatine	PCr	<i>Macromolécules</i>	
$\gamma$ -aminobutyrique acide	GABA	Macromolécules avec pic de résonance à 0.9 ppm	MM09
Glucose	Glc	Macromolécules avec pic de résonance à 1.2 ppm	MM12
Glutamine	Gln	Macromolécules avec pic de résonance à 1.4 ppm	MM14
Glutamate	Glu	Macromolécules avec pic de résonance à 1.7 ppm	MM17
Glycerophosphocholine	GPC	Macromolécules avec pic de résonance à 2.0 ppm	MM20
Phosphocholine	PCh	<b>Combinaisons</b>	
Glutathione	GSH	Glu+Gln	
myo-Inositol	Ins	Cr+PCr	
Lactate	Lac	NAA+NAAG	
N-Acetylaspartate	NAA	PCh+GPC	
N-Acetylaspartylglutamate	NAAG	Lip09+MM09	
Phosphorylethanolamine	PE	Lip20+MM20	
Taurine	Tau		
Glycine	Glyc		

Suite à l'analyse LCModel, des conditions de rejet ont été imposées afin de ne considérer que les spectres dont l'analyse a été correctement réalisée. Le SNR minimum a été fixé à 5, la largeur à mi-hauteur maximale à 30 et seuls les métabolites quantifiés avec un CRLB < 20 % ont été considérés. Les concentrations ont finalement été testées entre groupes par des tests de Krsukal-Wallis suivis de tests *post-hoc* 2 à 2 (test de Dunn).

## 7.2.2 Résultats

### 7.2.2.1 Hippocampe

#### 7.2.2.1.1 Qualité des spectres et de la quantification

Des 24 spectres traités, 2 ont été rejetés car l'un présentait une résolution et un SNR insuffisants et des erreurs de localisation étaient soupçonnées pour l'autre. Au total 22 spectres ont donc été analysés dont 8 sham, 8 LPS et 6 LPS+IL1-Ra.

Glu, GSH, NAA, PE et Tau ont été quantifiés dans chaque spectre avec un CRLB < 20%. GABA a également été mesuré avec un CRLB < 20% dans tous les spectres excepté un. Les combinaisons Cr+PCr, Glu+Gln, NAA+NAAG et PCh+GPC ont permis de quantifier ces duos avec une CRLB < 20% pour chaque spectre excepté PCh+GPC pour lequel la quantification est moins robuste (i.e. CRLB > 20%) dans 2 des spectres analysés. Seul GPC n'a pu être quantifié dans plus de 50 % des spectres analysés.

La figure 7.4 présente la distribution de la largeur à mi-hauteur et du SNR pour les spectres acquis dans l'hippocampe et le corps calleux.

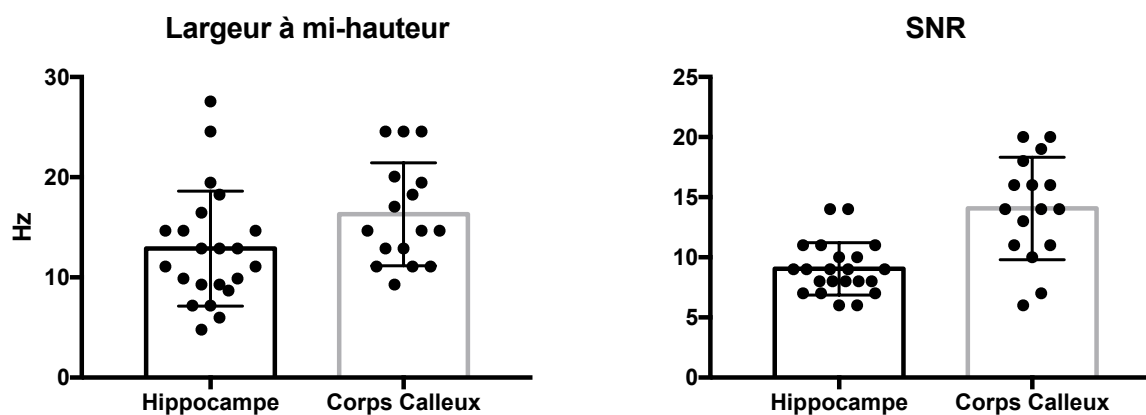


Figure 7.4 : Distribution de la largeur à mi-hauteur et du SNR des spectres acquis dans l'hippocampe et le corps calleux. Le SNR est défini comme à la figure 2.20.

#### 7.2.2.1.2 Changements en concentration des métabolites

Glu, NAA, NAA+NAAG et PE diffèrent significativement ( $p < 0.05$ ) entre les groupes. Les tests post-hoc montrent également une diminution significative entre le groupe sham et LPS. PCh+GPC et Glu+Gln atteignent presque le seuil statistique ( $p=0.059$  et  $p=0.0677$ ,

respectivement). Tous ces métabolites présentent une tendance à être réduits dans le groupe LPS et LPS+IL1-Ra par rapport au groupe sham, avec une réduction moins prononcée dans le groupe IL1-Ra.

#### *7.2.2.1.3 Changements en concentration des lipides libres et macromolécules*

Une augmentation significative dans le groupe LPS par rapport au groupe sham a été trouvée pour le signal de lipides et de macromolécules qui présentent un pic de résonance à 2.0 ppm (Lip20 +MM20).

La figure 7.5 et le tableau 7.2 résument les résultats.

Tableau 7.2. : Résultats des tests de Kruskal-Wallis et des comparaisons post-hoc pour les métabolites qui sont quantifiés dans la majorité des spectres. Non repris dans le tableau : Asp, Glc, GPC, Ins, Lac, NAAG, Lip09, Lip13a, Lip20, MM12, MM14, MM17, MM20. \* :  $p < 0.05$  ; \*\* :  $p < 0.01$  ; \*\*\* :  $p < 0.001$  ; (\*) :  $0.05 < p < 0.1$ .

	Kruskal-Wallis	SHAM vs LPS	SHAM vs LPS+IL1-Ra	LPS vs LPS+IL1-Ra
<b>Métabolites</b>				
Ala	0.7529	>0.9999	>0.9999	>0.9999
Cr	0.2881	>0.9999	0.3602	>0.9999
GABA	0.1657	0.3998	0.2585	>0.9999
Gln	0.9872	>0.9999	>0.9999	>0.9999
Glu	<b>0.0031**</b>	<b>0.0062**</b>	0.1128	>0.9999
PCh	0.5445	0.8171	>0.9999	>0.9999
GSH	0.1103	0.3176	0.1628	>0.9999
NAA	<b>0.007**</b>	0.0132	>0.9999	0.1064
PE	<b>0.0204*</b>	<b>0.0211*</b>	0.6366	0.6366
Tau	0.4335	>0.9999	0.5737	>0.9999
Glyc	0.1672	0.3794	0.2770	>0.9999
Glu+Gln	0.0677(*)	0.0846(*)	0.3262	>0.9999
Cr+PCr	0.7567	>0.9999	>0.9999	>0.9999
NAA+NAAG	<b>0.0002***</b>	<b>0.001**</b>	0.3341	0.2548
PCh+GPC	0.059(*)	0.0752(*)	>0.9999	0.3865
<b>Lipides et macromolécules</b>				
MM09	0.3260	0.8957	>0.9999	0.4317
Lip09+MM09	0.2204	0.7433	0.2613	>0.9999
Lip20+MM20	<b>0.0039**</b>	<b>0.0113*</b>	0.0775(*)	>0.9999

## Hippocampe

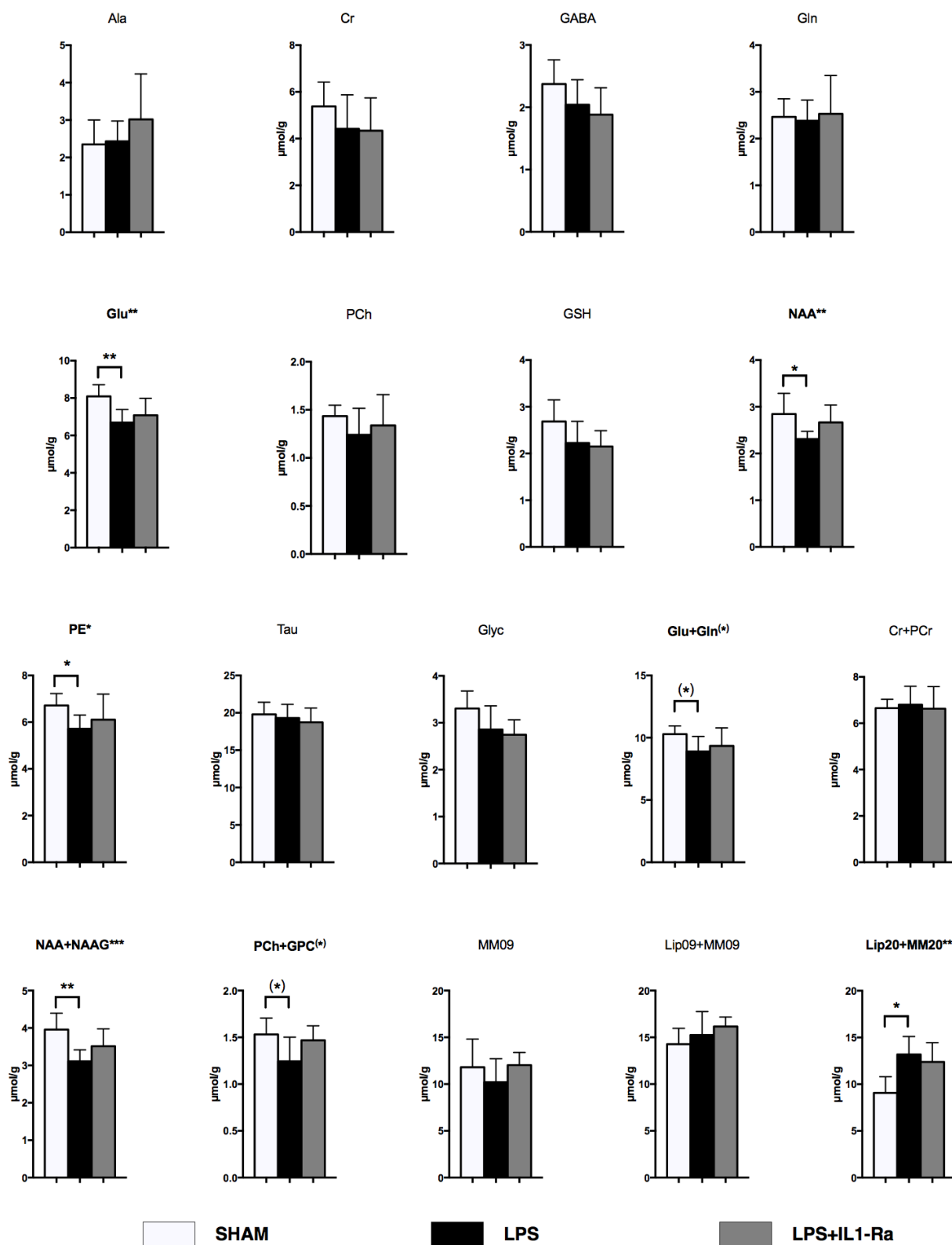


Figure 7.5. : Résultats de spectroscopie dans l'hippocampe. La barre indique l'écart-type. \* :  $p < 0.05$  ; \*\* :  $p < 0.01$  ; \*\*\* :  $p < 0.001$ .

### 7.2.2.2 Corps calleux

#### 7.2.2.2.1 Qualité des spectres et de la quantification

Des 20 spectres acquis dans le corps calleux, quatre ont été rejetés. Pour trois d'entre eux, l'analyse LCModel a échoué et la ligne de base présente de fortes ondulations et pour le quatrième le VOI n'avait pas les bonnes dimensions ( $4 \times 4 \times 4 \text{ mm}^3$  au lieu de  $4 \times 4 \times 1 \text{ mm}^3$ ). Seuls Glu, NAA, PE et Tau ont été estimés avec un CRLB  $< 20\%$  dans tous les spectres. Bien que les concentrations de Glyc et GSH aient été estimées avec un CRLB  $< 20\%$  pour la plupart des spectres (14 et 15 sur 16 pour Glyc et GSH respectivement). Les combinaisons Glu+Gln, Cr+Pcr, NAA+NAAG et Lip09+MM09 ont également été estimées dans tous les spectres avec un CRLB  $< 20\%$ . Les résultats sont présentés à la figure 7.6.

#### 7.2.2.2.2 Changements en concentration des métabolites

Aucun changement significatif dans la concentration des métabolites n'a été mesuré dans le corps calleux. On observe cependant une tendance inverse à celle de l'hippocampe pour Glu, NAA(+NAAG), et PE. Alors que ces derniers diminuaient significativement dans l'hippocampe pour le groupe LPS, ils augmentent dans le corps calleux.

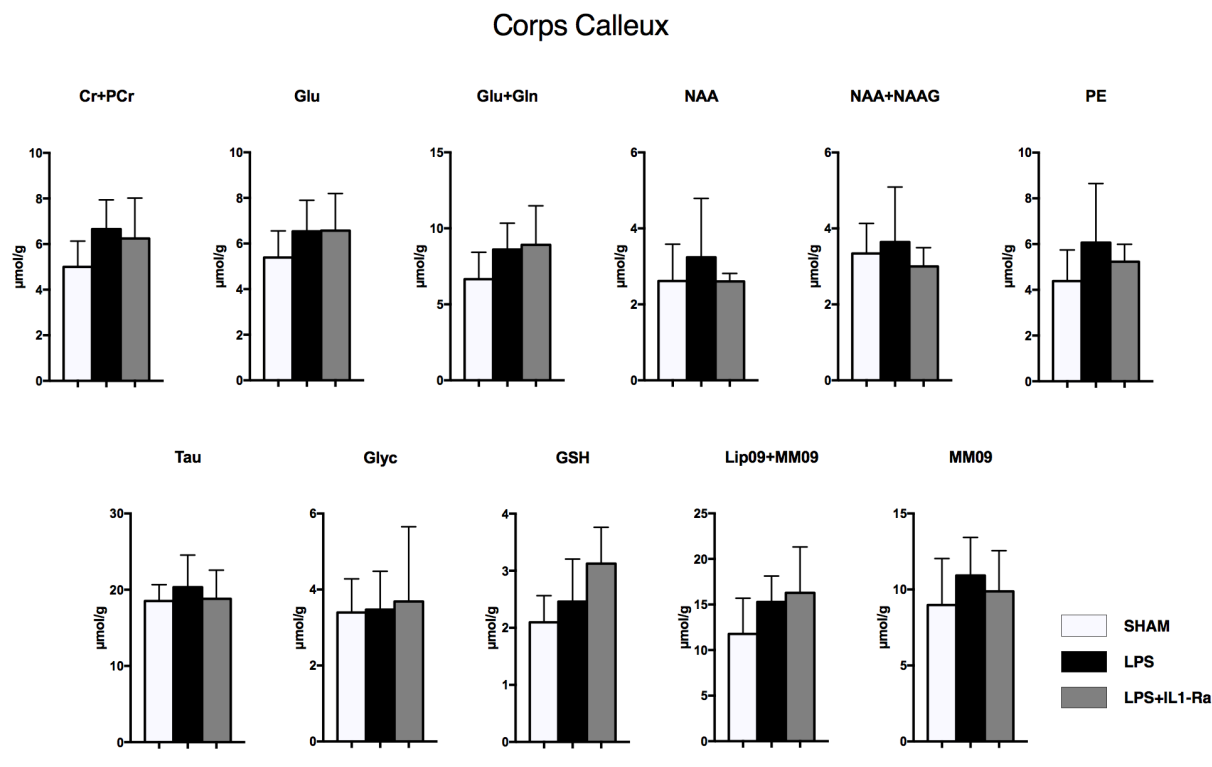


Figure 7.6. : Résultats de spectroscopie dans le corps calleux. La barre indique l'écart-type.

## CHAPITRE 8 DISCUSSION GÉNÉRALE

Tout au long de ce mémoire des données provenant de deux modalités différentes (imagerie de diffusion et spectroscopie) et de 2 protocoles différents (*ex vivo* et *in vivo*) ont été analysées avec différentes techniques (VBA, TBSS, ROI, histogramme, segmentation, ...). Le présent chapitre discute les outils développés et les conclusions que l'on peut tirer de l'ensemble des résultats obtenus sur les lésions inflammatoires du raton.

### 8.1 Les analyses automatiques des données de diffusion

#### *Prétraitement*

Plusieurs méthodes d'analyse ont été développées et décrites tout au long de ce mémoire. Pour chaque analyse, les premières étapes de prétraitement, jusqu'à l'estimation du tenseur et la dérivation des cartes scalaires, sont communes. Le prétraitement est relativement simple et direct et ne comprend pas de processus d'extraction du cerveau ni de corrections des courants de Foucault et des artéfacts de mouvement. Ces deux étapes généralement incorporées aux pipelines d'analyse des données de diffusion ont été omises car, pour la première, elle était soit inutile (données *ex vivo*) soit inapplicable (données *in vivo*). La correction des courants de Foucault est indispensable pour les acquisitions en EPI sans laquelle de clairs artéfacts s'observent. Les données n'ayant pas été acquises en EPI, il a été choisi de ne pas implémenter cette correction car aucune distorsion caractéristique n'a été observée. Il aurait probablement été bénéfique de procéder à une correction des artéfacts de mouvement dans le cas des données *in vivo*, mais les résidus de l'estimation du tenseur ne suggéraient pas des problèmes liés au mouvement et il a été choisi de ne pas inclure cette étape. De plus, le très faible SNR gêne le recalage (appliqué dans les processus de correction des mouvements) et le résultat risquerait d'être plus préjudiciable que bénéfique. Toutefois, incorporer cette étape permettrait d'élargir l'éventail d'application du pipeline.

#### *Normalisation spatiale*

Les techniques de normalisation spatiale développées se basent uniquement sur des templates construits à partir de la population. En effet, sur base des résultats de la littérature (cf. chapitre 2),



la normalisation sur ce type de template permet d'obtenir la meilleure qualité d'alignement. L'optimisation s'est donc concentrée sur la comparaison de différents algorithmes plutôt que sur la comparaison de différents types de templates. Il est d'ailleurs postulé que la quasi-équivalence des pipelines testés au chapitre 5 est intimement liée à l'utilisation de templates construits à partir de la population pour chacune des méthodes.

### *Statistiques*

Les tests statistiques mis à disposition, pour VBA et TBSS, sont limités aux tests non-paramétriques de permutation. Ceux-ci sont les tests généralement appliqués lors d'une analyse TBSS (cf. tableau 2.5) mais dans le cas de VBA, les tests paramétriques constituent la norme (cf. tableau 2.3). Cette tendance provient de l'analyse des cartes statistiques en imagerie fonctionnelle, cependant, dans le cas des données de diffusion, l'hypothèse de normalité n'est généralement pas respectée (Smith *et al.*, 2006). Il a donc été choisi de restreindre les tests statistiques aux approches non-paramétriques seules qui sont plus générales et plus valides en cas de non-normalité.

### *Les analyses voxel-par-voxel*

Différents pipelines ont été comparés au chapitre 5, et on en retire principalement que ceux-ci sont presque équivalents et qu'il n'en ressort pas des incohérences telles que celles mises en évidence par Jones *et al.* (2007) où plusieurs groupes avaient comparés un même ensemble de données. Cependant, ces tests ayant été conduits sur des données réelles, dont l'effet est non-connu a priori, il n'est pas possible de tirer des conclusions solides sur la performance relative de ces différentes techniques. La prochaine étape qui s'impose dans le but d'optimiser les pipelines est l'utilisation de données simulées. Elles permettraient, par exemple, de quantifier la sensibilité et spécificité de chacun des pipelines présentés au chapitre 4. Il serait aussi possible de déterminer empiriquement la différence minimale détectable, ce qui permettrait de mieux établir la sensibilité de DTI à l'étude des lésions inflammatoires de la matière blanche. Van Hecke *et al.* (2009) proposent un *framework* pour la création de populations simulées et réalistes, en incorporant du bruit et une déformation pour chaque individu. Une implémentation partielle est incorporée dans la suite d'outils ANTs et constituerait une bonne base pour développer et appliquer ce *framework* à l'optimisation des pipelines présentés ici.

L'article présenté au chapitre 5 a permis de mettre en avant plusieurs limitations des analyses

voxel-par-voxel, VBA et TBSS. Sur base de ses résultats, il est possible d'envisager des alternatives telles que d'abandonner tout simplement le filtrage dans VBA ou de renforcer la qualité de la projection TBSS en considérant, en sus de la distance au tract, les frontières des faisceaux de matière blanche. Celles-ci pouvant être déterminées selon la méthode proposée par Kindlmann *et al.* (2007) où la séparation entre faisceaux, et le centre des faisceaux sont définis comme les vallées et les crêtes d'anisotropie respectivement.

L'absence de différences lors de l'analyse par histogramme des données *ex vivo*, malgré l'étendue des lésions, confirme la nécessité d'utiliser des méthodes plus précises et permettant une analyse localisée telles que VBA et TBSS.

#### *Analyse des données in vivo*

La qualité des données *in vivo* n'a pas permis d'appliquer les pipelines automatisés, cependant l'expérience acquise durant le projet et plusieurs améliorations au niveau du protocole d'acquisition (cf. annexe D) pourraient rendre l'application de ces pipelines possible. Lors de l'acquisition, éviter d'exercer une pression avec l'antenne sur le crâne du raton permettrait de réduire les déformations. En effet, le crâne étant encore très malléable, le cerveau est fortement déformé (Figure 3.2) sous la pression et la déformation empiète sur les analyses automatiques post-hoc. En outre, le développement d'un système utilisant une antenne de surface pour la réception et une antenne de volume pour l'excitation a également permis d'améliorer le SNR ainsi que son homogénéité.

#### *Parcellisation de la matière blanche sous corticale*

Cette approche a permis d'analyser les données de diffusion *in vivo* de façon semi-automatique et de confirmer les résultats obtenus par l'analyse par ROI classique. Les résultats sont très proches de ceux obtenus par les ROI classiques et le plus faible niveau de significativité statistique des différences est probablement dû à la taille d'échantillon largement réduite (12 contre 22).

Cette technique pourrait se comparer à une tractographie du pauvre guidée par une information a priori sur la trajectoire (la segmentation de la matière blanche). De ce fait, pour des données de meilleure qualité, il est conseillé d'appliquer la tractographie en bonne et due forme et d'utiliser des techniques de paramétrisation du faisceau telle que proposée dans Corouge *et al.*

(2006) par exemple.

## **8.2 Interprétation des résultats dans le cadre des lésions inflammatoires de la matière blanche**

### *Analyses ex vivo*

La réaction inflammatoire provoquée par l'injection de LPS a causé des lésions persistantes dans la matière blanche sous-corticale à P24. Il est difficile d'inférer un mécanisme lésionnel à partir des résultats IRM sans données d'immuno-histologie ou tout autre modalité d'imagerie post-mortem. On peut cependant postuler différentes hypothèses. En effet, la lésion provoque essentiellement une diminution de la diffusivité axiale ce qui a précédemment été établi (cf. section 2.2.3) comme traduisant une diminution de la densité ou de l'intégrité axonale. La diminution de la diffusivité axiale pourrait aussi être due à un encombrement de l'espace inter-axonale par des macromolécules suite à la réaction inflammatoire.

Plusieurs facteurs peuvent expliquer pourquoi la réduction en volume de l'hippocampe reportée par certains groupes n'est pas observée ici. Deux de ces études (Fan et al., 2005 ; Fan et al., 2008) infèrent le volume hippocampal sur base d'une seule coupe coronale à un niveau fixé. L'index de volume hippocampal y est défini comme étant le ratio de l'aire de l'hippocampe sur cette coupe par l'aire totale de la coupe. Or, on observe dans nos données que la dilatation ventriculaire cause le recul de l'hippocampe dans une position plus antérieure réduisant ainsi artificiellement la valeur de cet index de volume, sans pour autant que l'hippocampe aie réellement un volume réduit. Malgré tout, la grande variance du volume dans le groupe lésé suggère une atteinte de l'hippocampe. Notons cependant que la mesure de volume est absolue et n'est pas rapportée au volume total du cerveau. Il a été choisi de ne pas le faire car il n'était pas possible de mesurer le volume total pour la plupart des animaux, certaines parties étant manquantes. Inclure la mesure du volume total, pourrait permettre une meilleure interprétation de ces résultats. La différence entre hippocampes ipsi- et controlatéraux dans le groupe sham est inattendue et pourrait suggérer que l'injection de saline cause une certaine réaction. D'un autre côté, cette différence pourrait être simplement due à l'asymétrie naturelle du cerveau du rat. Finalement notons, que les données *ex vivo* ne présentent pas la dilatation bilatérale des ventricules largement documentée par plusieurs études (Cai *et al.*, 2003 ; Pang *et al.*, 2003 ; Fan *et al.*, 2005 ; Fan *et al.*, 2008 ; Wang *et*

*al.*, 2013) sur ce modèle. Bien que la dilatation cause une différence statistiquement significative, celle-ci n'est relativement pas très prononcée. Seul un cerveau injecté avec du LPS présente une large dilatation et celle-ci est unilatérale. Les autres présentent des dilatations légères, majoritairement unilatérales. Il est possible que la dose de LPS injectée joue un rôle dans cette dilatation plus modérée, celle-ci ayant été réduite de 1 mg/kg à 0.8 mg/kg.

### *Analyses in vivo*

L'analyse par régions d'intérêt a permis de souligner une diminution significative de la diffusion moyenne dans le corps calleux et les deux cingulum. Dans chaque région, cette diminution est majoritairement due à une diminution de la diffusivité radiale. Ces résultats reproduisent les observations faites par Lodygensky *et al.* (2014) où le même modèle avait été étudié à P3. Intuitivement, la diminution de diffusivité est la plus prononcée dans le cingulum ipsilatéral (-30%). Le cingulum controlatéral présente une diminution un peu moins forte (-24%) mais tout de même importante, ce qui témoigne d'une réaction inflammatoire répandue. Bien que proche du site de l'injection, le corps calleux montre une diminution plus limitée (-10%). La nature de ces différentes régions pourrait expliquer cette différence. En effet, le corps calleux est composé de faisceaux denses orientés médio-latéralement, tandis que la région des cingulum comporte plusieurs populations de fibres orientées différemment. Sans imagerie post-mortem, il est difficile de déterminer le processus exact menant à cette décroissance de la diffusivité. Cependant, il est probable que celle-ci soit largement due à un encombrement de l'espace extra-axonal par de larges macromolécules suite à la réaction inflammatoire. Finalement, notons que pour chaque méthode appliquée aux données *in vivo*, la FA est restée insensible aux changements, soulignant bien la nécessité de considérer les diffusions axiales et radiales dans l'étude de l'intégrité de la matière blanche.

Les données de spectroscopie ont permis de souligner plusieurs changements métaboliques dans l'hippocampe suite à la réaction inflammatoire. Les interactions entre métabolites sont complexes et, à partir des résultats de spectroscopie seuls, il est difficile de tirer des conclusions sur le mécanisme de la réaction inflammatoire. On peut cependant noter que la diminution de NAA suggère une diminution de la fonction neuronale dans l'hippocampe. De plus, le glutamate, qui est le neurotransmetteur exciteur dominant, est également réduit et atteste d'une activité neuronale plus faible. Ceci est en accord avec la littérature qui décrit une atteinte de l'hippocampe et des

capacités cognitives directement liées à celui-ci (mémoire, navigation spatiale). La diminution de PE, un métabolite intimement lié à la myélination et la prolifération cellulaire, permet d'envisager des défauts futurs dans ces deux processus durant le développement. De plus, la concentration des composés choliniques, PCh et GPC, également impliqués dans la myélination diminuent presque significativement. Des changements dans les concentrations lipidiques ont également été observés. Le seul changement significatif est cependant celui de Lip20+MM20, une combinaison du signal des lipides à 2.0 ppm et de celui des macromolécules. Notons cependant que les lipides seules (Lip09, Lip13a et Lip20) présentent une augmentation significative lorsque l'on inclut les quantifications pour lesquelles  $20\% < \text{CRLB} < 25\%$ . Il est possible que cette augmentation soit directement liée à l'injection de LPS, un composé qui contient des lipides. En effet, Lip09 et Lip13a en particulier sont présents en quantité semblables dans les deux groupes ayant reçu une injection de LPS.

Les résultats de la spectroscopie dans le corps calleux sont plus complexes à interpréter. L'absence de différences significatives ne permet pas de s'intéresser à des métabolites en particulier. Curieusement, plusieurs métabolites (NAA, Glu, Cr+PCr, GABA, Tau, PE) présentent une augmentation apparente dans le groupe LPS. Bien que celles-ci ne soient pas significatives, il est intéressant de remarquer que des métabolites dont la concentration était significativement réduite dans l'hippocampe, se retrouvent en plus grande concentration dans le corps calleux. Toutefois, une augmentation de glutamate n'est pas entièrement surprenante. En effet, une trop grande concentration de glutamate peut provoquer une excitotoxicité via l'activation de la microglie par le biais de l'activation des récepteurs NMDA (Jin et al., 2015) et ultimement mener à la lésion de la matière blanche.

La précision de la quantification est difficile à estimer, les références sur les concentrations métaboliques étant peu nombreuses. Tkáč *et al.* (2003) ont étudié l'évolution du profil neurochimique de P7 à P28. Si l'on compare les valeurs obtenues à celle reportée dans cette étude, certains métabolites sont présents dans des concentrations similaires (Cr+PCr, PE, GPC+PCh), mais d'autres présentent de fortes disparités (Glu, Tau). Ces différences peuvent toutefois provenir de la différence d'âge des animaux. Notons que le paramètre WCONC discuté précédemment, n'a pas été adapté entre le groupe sham et LPS. Le changement en contenu d'eau suite à des œdèmes pourrait influencer cette quantification et mener à une sous-estimation des concentrations métaboliques dans le groupe LPS. Afin d'être rigoureux, il aurait été nécessaire d'estimer le

contenu en eau pour les deux groupes, en comparant le poids avant et après assèchement du cerveau, par exemple.

Les résultats de spectroscopie sont similaires à ceux reportés dans une étude par Lodygensky *et al.* (2014) où une augmentation de macromolécules avait été observée. Une augmentation de lactate avait également été reportée. Cette augmentation n'est pas reproduite ici, essentiellement car la quantification du lactate a échoué la plupart du temps, l'estimation étant gênée par la proximité du pic de résonance du lactate et de celui de Lip13a.

Le rôle probable des cellules gliales dans la réaction inflammatoire fait du myo-inositol une cible à surveiller. Cependant, bien que celui-ci soit généralement bien résolu pour des temps d'écho très court, il n'a pas été possible de le détecter de façon robuste. Il est possible que sa faible concentration à P4 (Tkáč *et al.*, 2003) combinée à la proximité d'autres pics de résonance ait entravé sa quantification.

Il est difficile de faire un lien entre les observations des changements de diffusion dans les données *in vivo* et *ex vivo*. Les différences dans le modèle (dose injectée différente), le protocole d'acquisition (*ex vivo* et *in vivo*), et le stade développemental engendrent un grand nombre d'inconnues et il n'est pas réellement possible d'inférer les mécanismes d'évolution de la lésion.

## CHAPITRE 9 CONCLUSION

Dans ce mémoire, plusieurs outils dédiés à l'analyse des données de diffusion et de spectroscopie ont été développés et testés. Notamment, trois pipelines de normalisation distincts qui utilisent des algorithmes état-de-l'art (SyN, DTI-TK) et standard (FNIRT), deux techniques d'analyses voxel-par-voxel (VBA et TBSS) ainsi que d'autres outils complémentaires (analyse par histogramme, parcellisation, ...). Un pipeline optimal et entièrement automatique pour les données de spectroscopie a également été développé.

Ces outils ont été appliqués avec succès à l'étude d'un modèle animal de lésion inflammatoire de la matière blanche. Les technologies de résonance magnétique se sont montrées sensibles à ce type de lésion tant bien en phase aiguë qu'à un stade chronique de la lésion. De plus, l'effet d'un traitement neuroprotecteur a pu être quantifié. Cependant, l'interprétation de ces résultats est limitée par le manque de données complémentaires telles que des données d'histologie ou comportementales et il n'est objectivement pas possible d'inférer qu'il existe une corrélation entre les observations en résonance magnétique et le degré lésionnel. Cependant, les résultats sont très encourageants.

Comme pour tout programme informatique, il existe une myriade d'améliorations possibles. Cependant, les améliorations les plus pertinentes seraient d'inclure des procédés de correction des courants de Foucault pour les pipelines DTI et d'incorporer une analyse statistique exploratoire telle qu'une analyse en composantes principales pour le pipeline MRS. Finalement, les tests extensifs conduits avec les analyses voxel-par-voxel ont permis de caractériser les limitations majeures de ces approches. Bien qu'elles soient toutes deux état de l'art, plusieurs modifications potentiellement bénéfiques sont envisageables. Pour VBA, l'utilisation de filtres de lissage anisotropiques est prometteur et permettrait une analyse de la matière blanche avec un effet de volume partiel limité. Pour TBSS, une modification de l'étape de projection qui empêcherait la projection de voxels appartenant à un faisceau anatomiquement distinct en utilisant le formalisme des vallées et crêtes d'anisotropie est une voie qui vaut la peine d'être explorée.

## BIBLIOGRAPHIE

- Adluru, N., Zhang, H., Fox, A.S., Shelton, S.E., Ennis, C.M., Bartosic, A.M., Oler, J.A., Tromp do, P.M., Zakszewski, E., Gee, J.C., Kalin, N.H., Alexander, A.L., 2012. A diffusion tensor brain template for rhesus macaques. *Neuroimage* 59, 306-318.
- Aharoni, R., Sasson, E., Blumenfeld-Katzir, T., Eilam, R., Sela, M., Assaf, Y., Arnon, R., 2013. Magnetic resonance imaging characterization of different experimental autoimmune encephalomyelitis models and the therapeutic effect of glatiramer acetate. *Exp Neurol* 240, 130-144.
- Alexander, D.C., Gee, J.C., 2000. Elastic matching of diffusion tensor images. *Computer vision and image understanding* 77, 233-250.
- Alexander, D.C., Pierpaoli, C., Basser, P.J., Gee, J.C., 2001. Spatial transformations of diffusion tensor magnetic resonance images. *Ieee Transactions on Medical Imaging* 20, 1131-1139.
- Andersson, J.L., 2008. Maximum a posteriori estimation of diffusion tensor parameters using a Rician noise model: why, how and but. *Neuroimage* 42, 1340-1356.
- Andersson, J.L., Jenkinson, M., Smith, S., 2007. Non-linear registration, aka Spatial normalisation FMRIB technical report TR07JA2. FMRIB Analysis Group of the University of Oxford 2.
- Andersson, J.L., Skare, S., 2002. A model-based method for retrospective correction of geometric distortions in diffusion-weighted EPI. *Neuroimage* 16, 177-199.
- Antonsen, B.T., Jiang, Y., Veraart, J., Qu, H., Nguyen, H.P., Sijbers, J., von Horsten, S., Johnson, G.A., Leergaard, T.B., 2013. Altered diffusion tensor imaging measurements in aged transgenic Huntington disease rats. *Brain Struct Funct* 218, 767-778.
- Ardekani, B.A., Guckemus, S., Bachman, A., Hoptman, M.J., Wojtaszek, M., Nierenberg, J., 2005. Quantitative comparison of algorithms for inter-subject registration of 3D volumetric brain MRI scans. *J Neurosci Methods* 142, 67-76.
- Ashburner, J., Friston, K.J., 1999. Nonlinear spatial normalization using basis functions. *Hum Brain Mapp* 7, 254-266.



- Ashburner, J., Friston, K.J., 2000. Voxel-based morphometry - The methods. *Neuroimage* 11, 805-821.
- Avants, B.B., Epstein, C.L., Grossman, M., Gee, J.C., 2008. Symmetric diffeomorphic image registration with cross-correlation: Evaluating automated labeling of elderly and neurodegenerative brain. *Med Image Anal* 12, 26-41.
- Avants, B.B., Yushkevich, P., Pluta, J., Minkoff, D., Korczykowski, M., Detre, J., Gee, J.C., 2010. The optimal template effect in hippocampus studies of diseased populations. *Neuroimage* 49, 2457-2466.
- Bach, M., Laun, F.B., Leemans, A., Tax, C.M., Biessels, G.J., Stieltjes, B., Maier-Hein, K.H., 2014. Methodological considerations on tract-based spatial statistics (TBSS). *Neuroimage* 100, 358-369.
- Ball, G., Counsell, S.J., Anjari, M., Merchant, N., Arichi, T., Doria, V., Rutherford, M.A., Edwards, A.D., Rueckert, D., Boardman, J.P., 2010. An optimised tract-based spatial statistics protocol for neonates: applications to prematurity and chronic lung disease. *Neuroimage* 53, 94-102.
- Bar-Shir, A., Duncan, I.D., Cohen, Y., 2009. QSI and DTI of excised brains of the myelin-deficient rat. *Neuroimage* 48, 109-116.
- Basser, P.J., 1997. New histological and physiological stains derived from diffusion-tensor MR images. *Ann N Y Acad Sci* 820, 123-138.
- Basser, P.J., Le Bihan, D., 1992. Fiber orientation mapping in an anisotropic medium with NMR diffusion spectroscopy. 11th annual meeting of the SMRM, Berlin.
- Basser, P.J., Mattiello, J., LeBihan, D., 1994a. Estimation of the effective self-diffusion tensor from the NMR spin echo. *J Magn Reson B* 103, 247-254.
- Basser, P.J., Mattiello, J., LeBihan, D., 1994b. MR diffusion tensor spectroscopy and imaging. *Biophys J* 66, 259-267.
- Basser, P.J., Pajevic, S., 2000. Statistical artifacts in diffusion tensor MRI (DT-MRI) caused by background noise. *Magn Reson Med* 44, 41-50.

- Basser, P.J., Pierpaoli, C., 1996. Microstructural and physiological features of tissues elucidated by quantitative-diffusion-tensor MRI. *J Magn Reson B* 111, 209-219.
- Bastin, M.E., 2001. On the use of the FLAIR technique to improve the correction of eddy current induced artefacts in MR diffusion tensor imaging. *Magnetic Resonance Imaging* 19, 937-950.
- Beaulieu, C., 2002. The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system - a technical review. *NMR Biomed* 15, 435-455.
- Beaulieu, C., Allen, P.S., 1994. Determinants of anisotropic water diffusion in nerves. *Magn Reson Med* 31, 394-400.
- Beg, M.F., Miller, M.I., Trouvé, A., Younes, L., 2005. Computing large deformation metric mappings via geodesic flows of diffeomorphisms. *International Journal of Computer Vision* 61, 139-157.
- Beloosesky, R., Ginsberg, Y., Khatib, N., Maravi, N., Ross, M.G., Itskovitz-Eldor, J., Weiner, Z., 2013. Prophylactic maternal N-acetylcysteine in rats prevents maternal inflammation-induced offspring cerebral injury shown on magnetic resonance imaging. *Am J Obstet Gynecol* 208, 213 e211-216.
- Benson, R.R., Gattu, R., Sewick, B., Kou, Z., Zakariah, N., Cavanaugh, J.M., Haacke, E.M., 2012. Detection of hemorrhagic and axonal pathology in mild traumatic brain injury using advanced MRI: implications for neurorehabilitation. *NeuroRehabilitation* 31, 261-279.
- Berthet, C., Lei, H., Gruetter, R., Hirt, L., 2011. Early predictive biomarkers for lesion after transient cerebral ischemia. *Stroke* 42, 799-805.
- Bihan, L., D., Breton, E., 1985. *Imagerie de diffusion in vivo par résonance magnétique nucléaire*. Gauthier-Villars, Paris, FRANCE.
- Bloch, F., Hansen, W.W., Packard, M., 1946. Nuclear Induction. *Physical Review* 69, 127-127.
- Bodammer, N., Kaufmann, J., Kanowski, M., Tempelmann, C., 2004. Eddy current correction in diffusion-weighted imaging using pairs of images acquired with opposite diffusion gradient polarity. *Magn Reson Med* 51, 188-193.

- Bookstein, F.L., 2001. "Voxel-based morphometry" should not be used with imperfectly registered images. *Neuroimage* 14, 1454-1462.
- Bottomley, P.A., 1987. Spatial localization in NMR spectroscopy in vivo. *Annals of the New York Academy of Sciences* 508, 333-348.
- Budde, M.D., Kim, J.H., Liang, H.F., Russell, J.H., Cross, A.H., Song, S.K., 2008. Axonal injury detected by in vivo diffusion tensor imaging correlates with neurological disability in a mouse model of multiple sclerosis. *NMR Biomed* 21, 589-597.
- Budde, M.D., Xie, M., Cross, A.H., Song, S.-K., 2009. Axial diffusivity is the primary correlate of axonal injury in the experimental autoimmune encephalomyelitis spinal cord: a quantitative pixelwise analysis. *The Journal of neuroscience* 29, 2805-2813.
- Cai, Z., Pang, Y., Lin, S., Rhodes, P.G., 2003. Differential roles of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta in lipopolysaccharide-induced brain injury in the neonatal rat. *Brain Res* 975, 37-47.
- Calabrese, E., Badea, A., Watson, C., Johnson, G.A., 2013. A quantitative magnetic resonance histology atlas of postnatal rat brain development with regional estimates of growth and variability. *Neuroimage* 71, 196-206.
- Calabrese, E., Johnson, G.A., 2013. Diffusion tensor magnetic resonance histology reveals microstructural changes in the developing rat brain. *Neuroimage* 79, 329-339.
- Cercignani, M., Iannucci, G., Rocca, M.A., Comi, G., Horsfield, M.A., Filippi, M., 2000. Pathologic damage in MS assessed by diffusion-weighted and magnetization transfer MRI. *Neurology* 54, 1139-1144.
- Chang, L.C., Jones, D.K., Pierpaoli, C., 2005. RESTORE: robust estimation of tensors by outlier rejection. *Magn Reson Med* 53, 1088-1095.
- Chen, L., Weng, Z.Q., Goh, L.Y., Garland, M., 2002. An efficient algorithm for automatic phase correction of NMR spectra based on entropy minimization. *Journal of Magnetic Resonance* 158, 164-168.
- Cheriet, F., 2014. Chapitre 8 : Recalage d'images médicales. GBM3720 : Traitement numérique d'images médicales, École Polytechnique de Montréal.

- Chiang, M.C., Dutton, R.A., Hayashi, K.M., Lopez, O.L., Aizenstein, H.J., Toga, A.W., Becker, J.T., Thompson, P.M., 2007. 3D pattern of brain atrophy in HIV/AIDS visualized using tensor-based morphometry. *Neuroimage* 34, 44-60.
- Christensen, G.E., 1999. Consistent Linear-Elastic Transformations for Image Matching. In: Kuba, A., Šámal, M., Todd-Pokropek, A. (Eds.), *Information Processing in Medical Imaging: 16th International Conference, IPMI'99 Visegrád, Hungary, June 28 – July 2, 1999 Proceedings*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 224-237.
- Christensen, G.E., Rabbitt, R.D., Miller, M.I., 1996. Deformable templates using large deformation kinematics. *IEEE Trans Image Process* 5, 1435-1447.
- Chung, S., Pelletier, D., Sdika, M., Lu, Y., Berman, J.I., Henry, R.G., 2008. Whole brain voxel-wise analysis of single-subject serial DTI by permutation testing. *Neuroimage* 39, 1693-1705.
- Collins, D.L., Neelin, P., Peters, T.M., Evans, A.C., 1994. Automatic 3D intersubject registration of MR volumetric data in standardized Talairach space. *J Comput Assist Tomogr* 18, 192-205.
- Corouge, I., Fletcher, P.T., Joshi, S., Gouttard, S., Gerig, G., 2006. Fiber tract-oriented statistics for quantitative diffusion tensor MRI analysis. *Med Image Anal* 10, 786-798.
- de Bakker, C.M., Altman, A.R., Li, C., Tribble, M.B., Lott, C., Tseng, W.J., Liu, X.S., 2016. Minimizing Interpolation Bias and Precision Error in In Vivo microCT-Based Measurements of Bone Structure and Dynamics. *Ann Biomed Eng* 44, 2518-2528.
- De Souza, S.W., Dobbing, J., 1971. Cerebral edema in developing brain. I. Normal water and cation content in developing rat brain and postmortem changes. *Exp Neurol* 32, 431-438.
- Dickinson, W.C., 1950. Dependence of the  $\{\mathrm{F}\}^{19}$  Nuclear Resonance Position on Chemical Compound. *Physical Review* 77, 736-737.
- Drobyshevsky, A., Song, S.K., Gamkrelidze, G., Wyrwicz, A.M., Derrick, M., Meng, F., Li, L., Ji, X., Trommer, B., Beardsley, D.J., Luo, N.L., Back, S.A., Tan, S., 2005. Developmental changes in diffusion anisotropy coincide with immature oligodendrocyte progression and maturation of compound action potential. *J Neurosci* 25, 5988-5997.

- Duarte, J., Carvalho, R.A., Cunha, R.A., Gruetter, R., 2009. Caffeine consumption attenuates neurochemical modifications in the hippocampus of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of neurochemistry* 111, 368-379.
- Duarte, J.M., Lei, H., Mlynarik, V., Gruetter, R., 2012. The neurochemical profile quantified by in vivo <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. *Neuroimage* 61, 342-362.
- Edden, R.A., Jones, D.K., 2011. Spatial and orientational heterogeneity in the statistical sensitivity of skeleton-based analyses of diffusion tensor MR imaging data. *Journal of Neuroscience Methods* 201, 213-219.
- Ennis, D.B., Kindlmann, G., 2006. Orthogonal tensor invariants and the analysis of diffusion tensor magnetic resonance images. *Magn Reson Med* 55, 136-146.
- Ernst, T., Kreis, R., Ross, B., 1993. Absolute quantitation of water and metabolites in the human brain. I. Compartments and water. *Journal of magnetic resonance, Series B* 102, 1-8.
- Fan, L.W., Pang, Y., Lin, S., Tien, L.T., Ma, T., Rhodes, P.G., Cai, Z., 2005. Minocycline reduces lipopolysaccharide-induced neurological dysfunction and brain injury in the neonatal rat. *J Neurosci Res* 82, 71-82.
- Fan, L.W., Tien, L.T., Mitchell, H.J., Rhodes, P.G., Cai, Z., 2008. Alpha-phenyl-n-tert-butyl-nitron ameliorates hippocampal injury and improves learning and memory in juvenile rats following neonatal exposure to lipopolysaccharide. *Eur J Neurosci* 27, 1475-1484.
- Fillard, P., Pennec, X., Arsigny, V., Ayache, N., 2007. Clinical DT-MRI estimation, smoothing, and fiber tracking with log-Euclidean metrics. *IEEE Trans Med Imaging* 26, 1472-1482.
- Frahm, J., Merboldt, K.-D., Hänicke, W., 1987. Localized proton spectroscopy using stimulated echoes. *Journal of Magnetic Resonance (1969)* 72, 502-508.
- Geng, X., Gu, H., Shin, W., Ross, T.J., Yang, Y., 2010. Group-wise diffeomorphic diffusion tensor image registration. *Med Image Comput Comput Assist Interv* 13, 598-606.
- Goshtasby, A.A., 2012. Image registration: Principles, tools and methods. Springer Science & Business Media.
- Govindaraju, V., Young, K., Maudsley, A.A., 2000. Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites. *NMR Biomed* 13, 129-153.

- Gozzi, A., Agosta, F., Massi, M., Ciccocioppo, R., Bifone, A., 2013. Reduced limbic metabolism and fronto-cortical volume in rats vulnerable to alcohol addiction. *Neuroimage* 69, 112-119.
- Gruetter, R., 1993. Automatic, Localized In vivo Adjustment of All 1st-Order and 2nd-Order Shim Coils. *Magnetic Resonance in Medicine* 29, 804-811.
- Guimond, A., Meunier, J., Thirion, J.-P., 2000. Average brain models: A convergence study. *Computer vision and image understanding* 77, 192-210.
- Hadamard, J., 1925. *Lectures on Cauchy's Problem in Linear Partial Differential Equations*. JSTOR.
- Hagberg, H., Bona, E., Gilland, E., Puka-Sundvall, M., 1997. Hypoxia-ischaemia model in the 7-day-old rat: possibilities and shortcomings. *Acta Paediatrica* 86, 85-88.
- Hahn, E.L., 1950. Spin Echoes. *Physical Review* 80, 580-594.
- Harris, N.G., Verley, D.R., Gutman, B.A., Sutton, R.L., 2016. Bi-directional changes in fractional anisotropy after experiment TBI: Disorganization and reorganization? *Neuroimage* 133, 129-143.
- Haselgrove, J.C., Moore, J.R., 1996. Correction for distortion of echo-planar images used to calculate the apparent diffusion coefficient. *Magn Reson Med* 36, 960-964.
- Hellier, P., Barillot, C., Memin, E., Perez, P., 2001. Hierarchical estimation of a dense deformation field for 3-D robust registration. *IEEE Trans Med Imaging* 20, 388-402.
- Hofstetter, S., Tavor, I., Tzur Moryosef, S., Assaf, Y., 2013. Short-term learning induces white matter plasticity in the fornix. *J Neurosci* 33, 12844-12850.
- Holden, M., 2008. A review of geometric transformations for nonrigid body registration. *Ieee Transactions on Medical Imaging* 27, 111-128.
- Hsu, E.W., Muzikant, A.L., Matulevicius, S.A., Penland, R.C., Henriquez, C.S., 1998. Magnetic resonance myocardial fiber-orientation mapping with direct histological correlation. *Am J Physiol* 274, H1627-1634.
- Jenkinson, M., Beckmann, C.F., Behrens, T.E., Woolrich, M.W., Smith, S.M., 2012. Fsl. *Neuroimage* 62, 782-790.

- Jin, C., Londono, I., Mallard, C., Lodygensky, G.A., 2015. New means to assess neonatal inflammatory brain injury. *J Neuroinflammation* 12, 180.
- Jones, D., Chitnis, X., Job, D., Khong, P., Leung, L., Marengo, S., Smith, S., Symms, M., 2007. What happens when nine different groups analyze the same DT-MRI data set using voxel-based methods. *Proceedings of the 15th Annual Meeting of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, Berlin, p. 74.
- Jones, D.K., Basser, P.J., 2004. "Squashing peanuts and smashing pumpkins": how noise distorts diffusion-weighted MR data. *Magn Reson Med* 52, 979-993.
- Jones, D.K., Catani, M., Pierpaoli, C., Reeves, S.J., Shergill, S.S., O'Sullivan, M., Golesworthy, P., McGuire, P., Horsfield, M.A., Simmons, A., Williams, S.C., Howard, R.J., 2006. Age effects on diffusion tensor magnetic resonance imaging tractography measures of frontal cortex connections in schizophrenia. *Hum Brain Mapp* 27, 230-238.
- Jones, D.K., Griffin, L.D., Alexander, D.C., Catani, M., Horsfield, M.A., Howard, R., Williams, S.C., 2002. Spatial normalization and averaging of diffusion tensor MRI data sets. *Neuroimage* 17, 592-617.
- Jones, D.K., Symms, M.R., Cercignani, M., Howard, R.J., 2005. The effect of filter size on VBM analyses of DT-MRI data. *Neuroimage* 26, 546-554.
- Kern, K.C., Sarcona, J., Montag, M., Giesser, B.S., Sicotte, N.L., 2011. Corpus callosal diffusivity predicts motor impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis: a TBSS and tractography study. *Neuroimage* 55, 1169-1177.
- Kindlmann, G., Tricoche, X., Westin, C.F., 2007. Delineating white matter structure in diffusion tensor MRI with anisotropy creases. *Med Image Anal* 11, 492-502.
- Kinoshita, Y., Ohnishi, A., Kohshi, K., Yokota, A., 1999. Apparent diffusion coefficient on rat brain and nerves intoxicated with methylmercury. *Environ Res* 80, 348-354.
- Kjonigsen, L.J., Lillehaug, S., Bjaalie, J.G., Witter, M.P., Leergaard, T.B., 2015. Waxholm Space atlas of the rat brain hippocampal region: three-dimensional delineations based on magnetic resonance and diffusion tensor imaging. *Neuroimage* 108, 441-449.

- Klein, A., Andersson, J., Ardekani, B.A., Ashburner, J., Avants, B., Chiang, M.C., Christensen, G.E., Collins, D.L., Gee, J., Hellier, P., Song, J.H., Jenkinson, M., Lepage, C., Rueckert, D., Thompson, P., Vercauteren, T., Woods, R.P., Mann, J.J., Parsey, R.V., 2009. Evaluation of 14 nonlinear deformation algorithms applied to human brain MRI registration. *Neuroimage* 46, 786-802.
- Klose, U., 1990. In vivo proton spectroscopy in presence of eddy currents. *Magn Reson Med* 14, 26-30.
- Koay, C.G., Carew, J.D., Alexander, A.L., Basser, P.J., Meyerand, M.E., 2006a. Investigation of anomalous estimates of tensor-derived quantities in diffusion tensor imaging. *Magn Reson Med* 55, 930-936.
- Koay, C.G., Chang, L.C., Carew, J.D., Pierpaoli, C., Basser, P.J., 2006b. A unifying theoretical and algorithmic framework for least squares methods of estimation in diffusion tensor imaging. *J Magn Reson* 182, 115-125.
- Larvaron, P., Boespflug-Tanguy, O., Renou, J.P., Bonny, J.M., 2007. In vivo analysis of the post-natal development of normal mouse brain by DTI. *NMR Biomed* 20, 413-421.
- Lauterbur, P.C., 1973. Image Formation by Induced Local Interactions: Examples Employing Nuclear Magnetic Resonance. *Nature* 242, 190-191.
- Le Bihan, D., Breton, E., Lallemand, D., Grenier, P., Cabanis, E., Laval-Jeantet, M., 1986. MR imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders. *Radiology* 161, 401-407.
- Leemans, A., Jones, D.K., 2009. The B-matrix must be rotated when correcting for subject motion in DTI data. *Magn Reson Med* 61, 1336-1349.
- Leow, A.D., Yanovsky, I., Chiang, M.C., Lee, A.D., Klunder, A.D., Lu, A., Becker, J.T., Davis, S.W., Toga, A.W., Thompson, P.M., 2007. Statistical properties of Jacobian maps and the realization of unbiased large-deformation nonlinear image registration. *IEEE Trans Med Imaging* 26, 822-832.
- Li, Q., Cheung, C., Wei, R., Cheung, V., Hui, E.S., You, Y., Wong, P., Chua, S.E., McAlonan, G.M., Wu, E.X., 2010. Voxel-based analysis of postnatal white matter microstructure in mice exposed to immune challenge in early or late pregnancy. *Neuroimage* 52, 1-8.



- Liu, X., Lai, Y., Wang, X., Hao, C., Chen, L., Zhou, Z., Yu, X., Hong, N., 2013. Reduced white matter integrity and cognitive deficit in never-medicated chronic schizophrenia: a diffusion tensor study using TBSS. *Behav Brain Res* 252, 157-163.
- Liu, Y., Duan, Y., He, Y., Yu, C., Wang, J., Huang, J., Ye, J., Parizel, P.M., Li, K., Shu, N., 2012. Whole brain white matter changes revealed by multiple diffusion metrics in multiple sclerosis: a TBSS study. *Eur J Radiol* 81, 2826-2832.
- Lodygensky, G.A., Inder, T.E., Neil, J.J., 2008. Application of magnetic resonance imaging in animal models of perinatal hypoxic-ischemic cerebral injury. *Int J Dev Neurosci* 26, 13-25.
- Lodygensky, G.A., Kunz, N., Perroud, E., Somm, E., Mlynarik, V., Huppi, P.S., Gruetter, R., Sizonenko, S.V., 2014. Definition and quantification of acute inflammatory white matter injury in the immature brain by MRI/MRS at high magnetic field. *Pediatr Res* 75, 415-423.
- Lust, W.D., Pundik, S., Zechel, J., Zhou, Y., Buczek, M., Selman, W.R., 2003. Changing metabolic and energy profiles in fetal, neonatal, and adult rat brain. *Metab Brain Dis* 18, 195-206.
- Mangin, J.F., Poupon, C., Clark, C., Le Bihan, D., Bloch, I., 2002. Distortion correction and robust tensor estimation for MR diffusion imaging. *Med Image Anal* 6, 191-198.
- Manninen, O., Koskenkorva, P., Lehtimäki, K.K., Hyppönen, J., Kononen, M., Laitinen, T., Kalimo, H., Kopra, O., Kalviainen, R., Grohn, O., Lehesjoki, A.E., Vanninen, R., 2013. White matter degeneration with Unverricht-Lundborg progressive myoclonus epilepsy: a translational diffusion-tensor imaging study in patients and cystatin B-deficient mice. *Radiology* 269, 232-239.
- Manninen, O., Laitinen, T., Lehtimäki, K.K., Tegelberg, S., Lehesjoki, A.E., Grohn, O., Kopra, O., 2014. Progressive volume loss and white matter degeneration in *cstb*-deficient mice: a diffusion tensor and longitudinal volumetry MRI study. *PLoS One* 9, e90709.
- Mlynarik, V., Gambarota, G., Frenkel, H., Gruetter, R., 2006. Localized short-echo-time proton MR spectroscopy with full signal-intensity acquisition. *Magn Reson Med* 56, 965-970.
- Mukherjee, P., Bahn, M.M., McKinstry, R.C., Shimony, J.S., Cull, T.S., Akbudak, E., Snyder, A.Z., Conturo, T.E., 2000. Differences between Gray Matter and White Matter Water Diffusion in Stroke: Diffusion-Tensor MR Imaging in 12 Patients 1. *Radiology* 215, 211-220.

- Mukherjee, P., Chung, S.W., Berman, J.I., Hess, C.P., Henry, R.G., 2008. Diffusion tensor MR imaging and fiber tractography: technical considerations. *AJNR Am J Neuroradiol* 29, 843-852.
- Musacchio, T., Toniutti, M., Kautz, R., Torchilin, V.P., 2009. <sup>1</sup>H NMR detection of mobile lipids as a marker for apoptosis: the case of anticancer drug-loaded liposomes and polymeric micelles. *Mol Pharm* 6, 1876-1882.
- Musse, O., Heitz, F., Armspach, J.P., 2001. Topology preserving deformable image matching using constrained hierarchical parametric models. *IEEE Trans Image Process* 10, 1081-1093.
- Nair, G., Tanahashi, Y., Low, H.P., Billings-Gagliardi, S., Schwartz, W.J., Duong, T.Q., 2005. Myelination and long diffusion times alter diffusion-tensor-imaging contrast in myelin-deficient shiverer mice. *Neuroimage* 28, 165-174.
- Narayana, P.A., Ahobila-Vajjula, P., Ramu, J., Herrera, J., Steinberg, J.L., Moeller, F.G., 2009. Diffusion tensor imaging of cocaine-treated rodents. *Psychiatry Res* 171, 242-251.
- Near, J., Edden, R., Evans, C.J., Paquin, R., Harris, A., Jezzard, P., 2014. Frequency and phase drift correction of magnetic resonance spectroscopy data by spectral registration in the time domain. *Magn Reson Med*.
- Nichols, T.E., Holmes, A.P., 2002. Nonparametric permutation tests for functional neuroimaging: A primer with examples. *Human Brain Mapping* 15, 1-25.
- Nickl-Jockschat, T., Stocker, T., Markov, V., Krug, A., Huang, R., Schneider, F., Habel, U., Zerres, K., Nothen, M.M., Treutlein, J., Rietschel, M., Shah, N.J., Kircher, T., 2012. The impact of a Dysbindin schizophrenia susceptibility variant on fiber tract integrity in healthy individuals: a TBSS-based diffusion tensor imaging study. *Neuroimage* 60, 847-853.
- Ono, J., Harada, K., Takahashi, M., Maeda, M., Ikenaka, K., Sakurai, K., Sakai, N., Kagawa, T., Fritz-Zieroth, B., Nagai, T., et al., 1995. Differentiation between dysmyelination and demyelination using magnetic resonance diffusional anisotropy. *Brain Res* 671, 141-148.
- Ordidge, R., Connelly, A., Lohman, J., 1986. Image-selected in vivo spectroscopy (ISIS). A new technique for spatially selective NMR spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance* (1969) 66, 283-294.

- Pang, Y., Cai, Z., Rhodes, P.G., 2003. Disturbance of oligodendrocyte development, hypomyelination and white matter injury in the neonatal rat brain after intracerebral injection of lipopolysaccharide. *Brain Res Dev Brain Res* 140, 205-214.
- Papp, E.A., Leergaard, T.B., Calabrese, E., Johnson, G.A., Bjaalie, J.G., 2014. Waxholm Space atlas of the Sprague Dawley rat brain. *Neuroimage* 97, 374-386.
- Park, H.J., Kubicki, M., Shenton, M.E., Guimond, A., McCarley, R.W., Maier, S.E., Kikinis, R., Jolesz, F.A., Westin, C.F., 2003. Spatial normalization of diffusion tensor MRI using multiple channels. *Neuroimage* 20, 1995-2009.
- Pfefferbaum, A., Zahr, N.M., Mayer, D., Rohlfing, T., Sullivan, E.V., 2015. Dynamic responses of selective brain white matter fiber tracts to binge alcohol and recovery in the rat. *PLoS One* 10, e0124885.
- Pfeuffer, J., Tkac, I., Provencher, S.W., Gruetter, R., 1999. Toward an in vivo neurochemical profile: quantification of 18 metabolites in short-echo-time (1)H NMR spectra of the rat brain. *J Magn Reson* 141, 104-120.
- Price, G., Cercignani, M., Parker, G.J., Altmann, D.R., Barnes, T.R., Barker, G.J., Joyce, E.M., Ron, M.A., 2008. White matter tracts in first-episode psychosis: a DTI tractography study of the uncinate fasciculus. *Neuroimage* 39, 949-955.
- Proctor, W.G., Yu, F.C., 1950. The Dependence of a Nuclear Magnetic Resonance Frequency upon Chemical Compound. *Physical Review* 77, 717-717.
- Provencher, S.W., 1993. Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magn Reson Med* 30, 672-679.
- Purcell, E.M., Torrey, H.C., Pound, R.V., 1946. Resonance Absorption by Nuclear Magnetic Moments in a Solid. *Physical Review* 69, 37-38.
- Qin, Y.Y., Li, M.W., Zhang, S., Zhang, Y., Zhao, L.Y., Lei, H., Oishi, K., Zhu, W.Z., 2013. In vivo quantitative whole-brain diffusion tensor imaging analysis of APP/PS1 transgenic mice using voxel-based and atlas-based methods. *Neuroradiology* 55, 1027-1038.

- Ratiney, H., Sdika, M., Coenradie, Y., Cavassila, S., Ormondt, D.v., Graveron-Demilly, D., 2005. Time-domain semi-parametric estimation based on a metabolite basis set. *NMR Biomed* 18, 1-13.
- Rohde, G.K., Barnett, A.S., Basser, P.J., Marengo, S., Pierpaoli, C., 2004. Comprehensive approach for correction of motion and distortion in diffusion-weighted MRI. *Magn Reson Med* 51, 103-114.
- Rohlfing, T., 2012. Image Similarity and Tissue Overlaps as Surrogates for Image Registration Accuracy: Widely Used but Unreliable. *Ieee Transactions on Medical Imaging* 31, 153-163.
- Rosenfeld, A., Kak, A.C., 1982. *Digital Picture Processing*. Academic Press, Inc.
- Rueckert, D., Sonoda, L.I., Hayes, C., Hill, D.L., Leach, M.O., Hawkes, D.J., 1999. Nonrigid registration using free-form deformations: application to breast MR images. *IEEE Trans Med Imaging* 18, 712-721.
- Ruest, T., Holmes, W.M., Barrie, J.A., Griffiths, I.R., Anderson, T.J., Dewar, D., Edgar, J.M., 2011. High-resolution diffusion tensor imaging of fixed brain in a mouse model of Pelizaeus-Merzbacher disease: comparison with quantitative measures of white matter pathology. *NMR Biomed* 24, 1369-1379.
- Rumple, A., McMurray, M., Johns, J., Lauder, J., Makam, P., Radcliffe, M., Oguz, I., 2013. 3-dimensional diffusion tensor imaging (DTI) atlas of the rat brain. *PLoS One* 8, e67334.
- Salvador, R., Pena, A., Menon, D.K., Carpenter, T.A., Pickard, J.D., Bullmore, E.T., 2005. Formal characterization and extension of the linearized diffusion tensor model. *Hum Brain Mapp* 24, 144-155.
- Schwartz, E.D., Cooper, E.T., Fan, Y., Jawad, A.F., Chin, C.L., Nissanov, J., Hackney, D.B., 2005. MRI diffusion coefficients in spinal cord correlate with axon morphometry. *Neuroreport* 16, 73-76.
- Searle, S., 1979. R. 1971. *Linear Models*. John Wiley & Sons, New York, NY.

- Seo, Y., Shinar, H., Morita, Y., Navon, G., 1999. Anisotropic and restricted diffusion of water in the sciatic nerve: A (2)H double-quantum-filtered NMR study. *Magn Reson Med* 42, 461-466.
- Shu, X., Qin, Y.Y., Zhang, S., Jiang, J.J., Zhang, Y., Zhao, L.Y., Shan, D., Zhu, W.Z., 2013. Voxel-based diffusion tensor imaging of an APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol* 48, 78-83.
- Siddiqui, A.A., Sarkar, A., Beltz, S., Lewis, J., Loren, D., Kowalski, T., Fang, J., Hilden, K., Adler, D.G., 2012. Placement of fully covered self-expandable metal stents in patients with locally advanced esophageal cancer before neoadjuvant therapy. *Gastrointestinal endoscopy* 76, 44-51.
- Sierra, A., Laitinen, T., Lehtimäki, K., Rieppo, L., Pitkanen, A., Grohn, O., 2011. Diffusion tensor MRI with tract-based spatial statistics and histology reveals undiscovered lesioned areas in kainate model of epilepsy in rat. *Brain Struct Funct* 216, 123-135.
- Simpson, R., Devenyi, G.A., Jezzard, P., Hennessy, T.J., Near, J., 2015. Advanced processing and simulation of MRS data using the FID appliance (FID-A)-An open source, MATLAB-based toolkit. *Magn Reson Med*.
- Slotboom, J., Bovee, W., 1995. Adiabatic slice-selective rf pulses and a single-shot adiabatic localization pulse sequence. *Concepts in Magnetic Resonance* 7, 193-217.
- Smith, S.M., Jenkinson, M., Johansen-Berg, H., Rueckert, D., Nichols, T.E., Mackay, C.E., Watkins, K.E., Ciccarelli, O., Cader, M.Z., Matthews, P.M., Behrens, T.E., 2006. Tract-based spatial statistics: voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. *Neuroimage* 31, 1487-1505.
- Smith, S.M., Kindlmann, G., Jbabdi, S., 2014. Chapter 10 - Cross-Subject Comparison of Local Diffusion MRI Parameters. *Diffusion MRI (Second Edition)*. Academic Press, San Diego, pp. 209-239.
- Smith, S.M., Nichols, T.E., 2009. Threshold-free cluster enhancement: Addressing problems of smoothing, threshold dependence and localisation in cluster inference. *Neuroimage* 44, 83-98.

- Soares, D.P., Law, M., 2009. Magnetic resonance spectroscopy of the brain: review of metabolites and clinical applications. *Clin Radiol* 64, 12-21.
- Soares, J.M., Marques, P., Alves, V., Sousa, N., 2013. A hitchhiker's guide to diffusion tensor imaging. *Front Neurosci* 7, 31.
- Song, S.K., Sun, S.W., Ramsbottom, M.J., Chang, C., Russell, J., Cross, A.H., 2002. Demyelination revealed through MRI as increased radial (but unchanged axial) diffusion of water. *Neuroimage* 17, 1429-1436.
- Song, S.K., Yoshino, J., Le, T.Q., Lin, S.J., Sun, S.W., Cross, A.H., Armstrong, R.C., 2005. Demyelination increases radial diffusivity in corpus callosum of mouse brain. *Neuroimage* 26, 132-140.
- Sotiras, A., Davatzikos, C., Paragios, N., 2013. Deformable medical image registration: a survey. *IEEE Trans Med Imaging* 32, 1153-1190.
- Stejskal, E.O., Tanner, J.E., 1965. SPIN DIFFUSION MEASUREMENTS: SPIN ECHOES IN THE PRESENCE OF A TIME-DEPENDENT FIELD GRADIENT. *JOURNAL OF CHEMICAL PHYSICS* 42, 288-288.
- Takahashi, M., Hackney, D.B., Zhang, G., Wehrli, S.L., Wright, A.C., O'Brien, W.T., Uematsu, H., Wehrli, F.W., Selzer, M.E., 2002. Magnetic resonance microimaging of intraaxonal water diffusion in live excised lamprey spinal cord. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 16192-16196.
- Talairach, J., Tournoux, P., 1988. Co-planar stereotaxic atlas of the human brain. 3-Dimensional proportional system: an approach to cerebral imaging.
- Tanner, J.E., 1977. Self-diffusion in cells and tissues. *Annual Report*.
- Thirion, J.-P., 1996. Non-rigid matching using demons. *Computer Vision and Pattern Recognition, 1996. Proceedings CVPR'96, 1996 IEEE Computer Society Conference on*. IEEE, pp. 245-251.
- Tkac, I., Rao, R., Georgieff, M.K., Gruetter, R., 2003. Developmental and regional changes in the neurochemical profile of the rat brain determined by in vivo <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. *Magn Reson Med* 50, 24-32.

- Trouvé, A., 1998. Diffeomorphisms groups and pattern matching in image analysis. *International Journal of Computer Vision* 28, 213-221.
- Tsao, J., 2003. Interpolation artifacts in multimodality image registration based on maximization of mutual information. *Ieee Transactions on Medical Imaging* 22, 854-864.
- Tustison, N.J., Avants, B.B., Cook, P.A., Kim, J., Whyte, J., Gee, J.C., Stone, J.R., 2014. Logical circularity in voxel-based analysis: Normalization strategy may induce statistical bias. *Human Brain Mapping* 35, 745-759.
- Tyszka, J.M., Readhead, C., Bearer, E.L., Pautler, R.G., Jacobs, R.E., 2006. Statistical diffusion tensor histology reveals regional dysmyelination effects in the shiverer mouse mutant. *Neuroimage* 29, 1058-1065.
- Van Camp, N., Blockx, I., Verhoye, M., Casteels, C., Coun, F., Leemans, A., Sijbers, J., Baekelandt, V., Van Laere, K., Van der Linden, A., 2009. Diffusion tensor imaging in a rat model of Parkinson's disease after lesioning of the nigrostriatal tract. *NMR Biomed* 22, 697-706.
- Van Hecke, W., Leemans, A., D'Agostino, E., De Backer, S., Vandervliet, E., Parizel, P.M., Sijbers, J., 2007. Nonrigid coregistration of diffusion tensor images using a viscous fluid model and mutual information. *Ieee Transactions on Medical Imaging* 26, 1598-1612.
- Van Hecke, W., Leemans, A., Sage, C.A., Emsell, L., Veraart, J., Sijbers, J., Sunaert, S., Parizel, P.M., 2011. The effect of template selection on diffusion tensor voxel-based analysis results. *Neuroimage* 55, 566-573.
- Van Hecke, W., Sijbers, J., D'Agostino, E., Maes, F., De Backer, S., Vandervliet, E., Parizel, P.M., Leemans, A., 2008. On the construction of an inter-subject diffusion tensor magnetic resonance atlas of the healthy human brain. *Neuroimage* 43, 69-80.
- Van Hecke, W., Sijbers, J., De Backer, S., Poot, D., Parizel, P.M., Leemans, A., 2009. On the construction of a ground truth framework for evaluating voxel-based diffusion tensor MRI analysis methods. *Neuroimage* 46, 692-707.
- Vanhamme, L., van den Boogaart, A., Van Huffel, S., 1997. Improved method for accurate and efficient quantification of MRS data with use of prior knowledge. *Journal of Magnetic Resonance* 129, 35-43.

- Veraart, J., Leergaard, T.B., Antonsen, B.T., Van Hecke, W., Blockx, I., Jeurissen, B., Jiang, Y., Van der Linden, A., Johnson, G.A., Verhoye, M., Sijbers, J., 2011. Population-averaged diffusion tensor imaging atlas of the Sprague Dawley rat brain. *Neuroimage* 58, 975-983.
- Vercauteren, T., Pennec, X., Perchant, A., Ayache, N., 2007. Non-parametric diffeomorphic image registration with the demons algorithm. *Med Image Comput Comput Assist Interv* 10, 319-326.
- Vercauteren, T., Pennec, X., Perchant, A., Ayache, N., 2008. Symmetric log-domain diffeomorphic Registration: a demons-based approach. *Med Image Comput Comput Assist Interv* 11, 754-761.
- Wang, K.C., Fan, L.W., Kaizaki, A., Pang, Y., Cai, Z., Tien, L.T., 2013. Neonatal lipopolysaccharide exposure induces long-lasting learning impairment, less anxiety-like response and hippocampal injury in adult rats. *Neuroscience* 234, 146-157.
- Wang, S., Wu, E.X., Qiu, D., Leung, L.H., Lau, H.F., Khong, P.L., 2009. Longitudinal diffusion tensor magnetic resonance imaging study of radiation-induced white matter damage in a rat model. *Cancer Res* 69, 1190-1198.
- Wang, Y., Gupta, A., Liu, Z., Zhang, H., Escolar, M.L., Gilmore, J.H., Gouttard, S., Fillard, P., Maltbie, E., Gerig, G., Styner, M., 2011. DTI registration in atlas based fiber analysis of infantile Krabbe disease. *Neuroimage* 55, 1577-1586.
- Woods, R.P., Grafton, S.T., Holmes, C.J., Cherry, S.R., Mazziotta, J.C., 1998. Automated image registration: I. General methods and intrasubject, intramodality validation. *J Comput Assist Tomogr* 22, 139-152.
- Worsley, K.J., Evans, A.C., Marrett, S., Neelin, P., 1992. A three-dimensional statistical analysis for CBF activation studies in human brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 12, 900-918.
- Wu, H., Wang, X., Gao, Y., Lin, F., Song, T., Zou, Y., Xu, L., Lei, H., 2016. NMDA receptor antagonism by repetitive MK801 administration induces schizophrenia-like structural changes in the rat brain as revealed by voxel-based morphometry and diffusion tensor imaging. *Neuroscience* 322, 221-233.



- Yamada, K., Sakai, K., Akazawa, K., Yuen, S., Nishimura, T., 2009. MR tractography: a review of its clinical applications. *Magn Reson Med Sci* 8, 165-174.
- Yeo, B.T., Vercauteren, T., Fillard, P., Pennec, X., Golland, P., Ayache, N., Clatz, O., 2008. DTI registration with exact finite-strain differential. 2008 5th IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro. IEEE, pp. 700-703.
- Yu, C.S., Lin, F.C., Liu, Y., Duan, Y., Lei, H., Li, K.C., 2008. Histogram analysis of diffusion measures in clinically isolated syndromes and relapsing-remitting multiple sclerosis. *Eur J Radiol* 68, 328-334.
- Yushkevich, P.A., Zhang, H., Simon, T.J., Gee, J.C., 2008. Structure-specific statistical mapping of white matter tracts. *Neuroimage* 41, 448-461.
- Zalesky, A., 2011. Moderating registration misalignment in voxelwise comparisons of DTI data: a performance evaluation of skeleton projection. *Magnetic Resonance Imaging* 29, 111-125.
- Zalsman, G., Weller, A., Shbiro, L., Barzilay, R., Gutman, A., Weizman, A., Mann, J.J., Wasserman, J., Wasserman, D., 2016. Fibre tract analysis using diffusion tensor imaging reveals aberrant connectivity in a rat model of depression. *World J Biol Psychiatry*, 1-9.
- Zerbi, V., Kleinnijenhuis, M., Fang, X., Jansen, D., Veltien, A., Van Asten, J., Timmer, N., Dederen, P.J., Kiliaan, A.J., Heerschap, A., 2013. Gray and white matter degeneration revealed by diffusion in an Alzheimer mouse model. *Neurobiol Aging* 34, 1440-1450.
- Zhang, H., Avants, B.B., Yushkevich, P.A., Woo, J.H., Wang, S., McCluskey, L.F., Elman, L.B., Melhem, E.R., Gee, J.C., 2007a. High-dimensional spatial normalization of diffusion tensor images improves the detection of white matter differences: an example study using amyotrophic lateral sclerosis. *IEEE Trans Med Imaging* 26, 1585-1597.
- Zhang, H., Awate, S.P., Das, S.R., Woo, J.H., Melhem, E.R., Gee, J.C., Yushkevich, P.A., 2010. A tract-specific framework for white matter morphometry combining macroscopic and microscopic tract features. *Med Image Anal* 14, 666-673.
- Zhang, H., Yushkevich, P.A., Alexander, D.C., Gee, J.C., 2006. Deformable registration of diffusion tensor MR images with explicit orientation optimization. *Med Image Anal* 10, 764-785.

- Zhang, H., Yushkevich, P.A., Rueckert, D., Gee, J.C., 2007b. Unbiased white matter atlas construction using diffusion tensor images. *Med Image Comput Comput Assist Interv* 10, 211-218.
- Zhilkin, P., Alexander, M.E., Sun, J., 2008. Nonlinear registration using variational principle for mutual information. *Pattern Recognition* 41, 2493-2502.
- Zhu, H., Barker, P.B., 2011. MR spectroscopy and spectroscopic imaging of the brain. *Magnetic Resonance Neuroimaging: Methods and Protocols*, 203-226.

## ANNEXE A - INTRODUCTION À L'ANATOMIE DU CERVEAU DU RAT

Cette annexe introduit les bases élémentaires de l'anatomie du cerveau du rat. Les structures principales de matière blanche sont décrites et repérées sur des images 2D et 3D. En fin d'annexe, le cerveau humain est illustré afin de mettre en évidence quelques différences avec le cerveau du rat (et du rongeur en général) et les impacts sur les analyses décrites tout au long de ce mémoire. Afin d'alléger la lecture les références sont reprises en fin d'annexe.

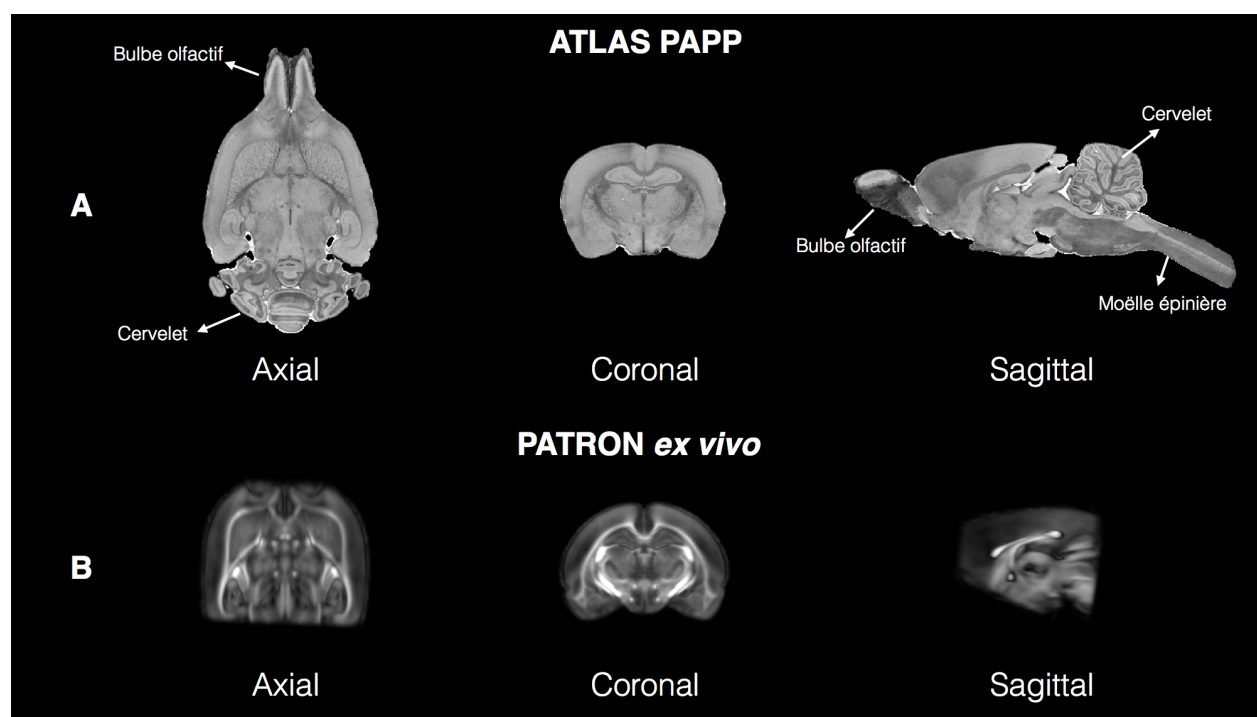


Figure A.1. : Le cerveau de rat selon les trois axes de vue stéréotaxiques. (a) Atlas ex vivo ( $T_2$ ). (b) Template ex vivo DTI-TK (FA) affinement recalé à l'atlas. Notons que nos données ne présentent pas les bulbes olfactifs, le cervelet ou la moelle épinière.

La figure A.1 montre le cerveau du rat dans son entièreté et donne un aperçu de l'anatomie générale. La figure A.2 identifie différentes structures sur des représentations trois-dimensionnelles du cerveau du rat. Notamment les faisceaux de matière blanche et l'hippocampe (décrits ci-dessous). Ces mêmes structures sont identifiées sur des images deux-dimensionnelles à la figure A.3.

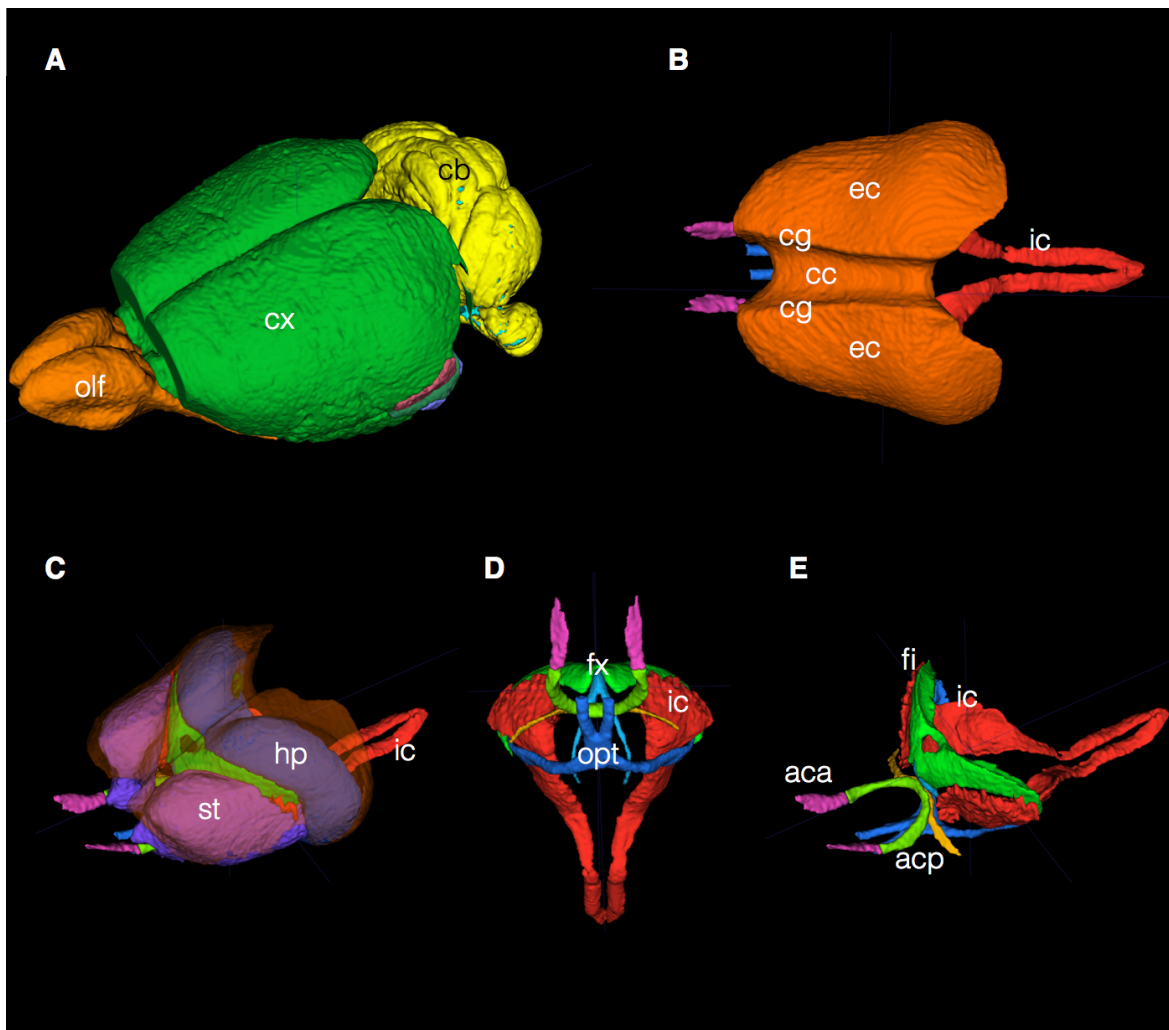


Figure A.2. : (a) Vue oblique supérieure du cerveau du rat. (b) Faisceaux de matière blanche principaux en vue du haut. Notons que le cingulum, le corps calleux et la capsule externe sont fusionnés (surface orange). La "vallée" constitue le corps calleux, les "crêtes" de part et d'autre du corps calleux constituent le cingulum et le reste de la région, la capsule externe. (c) Vue oblique supérieure des structures de matière blanche, de l'hippocampe et du striatum. (d) Vue inférieure. (e) Vue oblique supérieure des structures de matière blanche principales. aca : partie antérieure de la commissure antérieure; acp : partie postérieure de la commissure antérieure; cb : cervelet; cc : corps calleux; cg : cingulum; cx : cortex; ec : capsule externe; fi : fimbria; fx : fornix; hp : hippocampe; ic : capsule interne; olf : bulbes olfactifs; opt : tracts optiques; st : striatum.

## **Matière blanche**

Les faisceaux de matière blanche principaux sont les structures sous-corticales constituées du corps calleux, de la capsule externe et du cingulum. Les autres faisceaux de matière blanche majeurs sont le tract optique, la capsule interne, la commissure antérieure, le fornix et la fimbria de l'hippocampe.

### *Corps calleux*

Le corps calleux est un faisceau d'axones dense orienté médio-latéralement qui connecte les deux hémisphères cérébraux. Une partie des fibres du corps calleux se prolonge dans la capsule externe et une autre se projette dans le cortex.

### *Capsule externe*

La capsule externe est une lame de substance blanche qui prolonge de part et d'autre les faisceaux de matière blanche du corps calleux. Elle est située directement sous le cortex et recouvre ainsi les structures cérébrales sous-corticales notamment l'hippocampe et le striatum.

### *Cingulum*

Le cingulum est un faisceau de matière blanche orienté antéro-postérieurement. Il est situé au-dessus de la capsule externe, de part et d'autre du corps calleux.

### *Capsule interne*

La capsule interne est une paire de lames de matière blanche dans le plan inféro-supérieur et qui borde bi-latéralement le thalamus. Elle s'étend de la commissure antérieure jusqu'à la moëlle épinière.

### *Commissure antérieure*

La commissure antérieure est un faisceau de matière blanche qui établit la communication entre les bulbes olfactifs.

### *Faisceaux optiques*

Les faisceaux optiques originent du nerf optique et se projettent dans la région thalamique. Ils sont situés sous la région basale du cerveau jusqu'au niveau de la commissure antérieure. C'est à ce niveau que se situe le chiasme optique. Postérieurement au chiasme, les faisceaux remontent dans la matière grise de la région basale jusqu'au niveau du thalamus.

### *Fornix*

Le fornix est le faisceau principal de matière blanche efférent de l'hippocampe. Il débute au centre de la fimbria de l'hippocampe, se sépare en deux tracts au niveau de la commissure

antérieure et se projette sous le thalamus dans chaque hémisphère.

### *Fimbria de l'hippocampe*

La fimbria est constituée des fibres de matière blanche qui sortent de l'hippocampe et qui permettent la communication entre les deux hippocampes. Elle permet également la connexion de l'hippocampe avec d'autres structures telles que le thalamus.

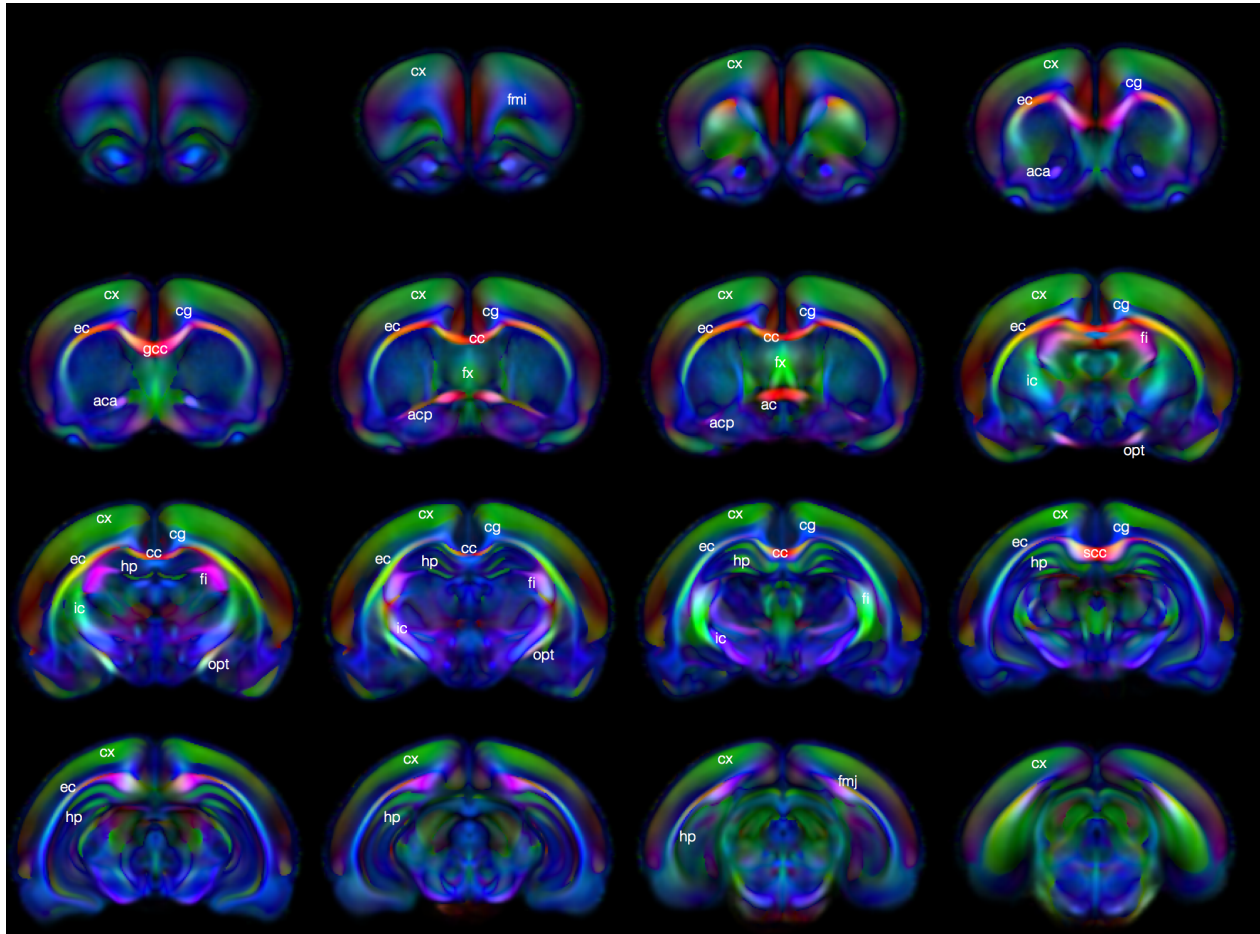


Figure A.3. : Identification des structures de matière blanche sur l'image RGB du template DTI-TK. aca : partie antérieure de la commissure antérieure; acp : partie postérieure de la commissure antérieure; ac : commissure antérieure; cc : corps calleux; cg : cingulum; cx : cortex; ec : capsule externe; fi : fimbria; fmi: forceps mineur du corps calleux; fmj : forceps majeur du corps calleux; fx : fornix; ic : capsule interne; gcc : genu du corps calleux; opt : tracts optiques; sac : splenium du corps calleux.

## Hippocampe

L'hippocampe est une structure du cerveau en forme de corne de bœuf (ou de banane) située sous la capsule externe. L'hippocampe joue un rôle dans la mémorisation, la navigation spatiale et l'inhibition du comportement. La dégénérescence de l'hippocampe entraîne des déficits de la mémoire et des capacités de navigation spatiale. Un exemple tristement célèbre de pathologie liée à l'hippocampe est la maladie d'Alzheimer.

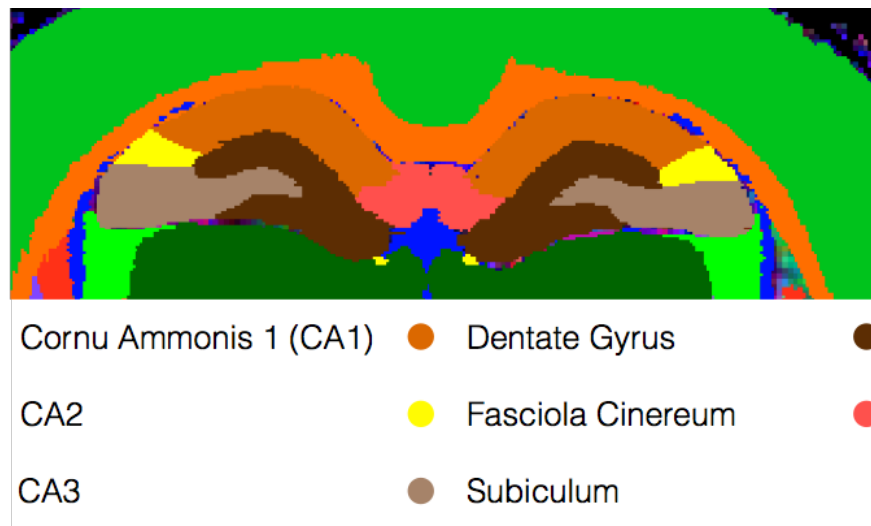


Figure A.4. : Détail de la formation hippocampale.

## Comparaison au cerveau humain

La figure A.5 présente l'image FA d'un cerveau humain et d'un cerveau de rat côte-à-côte. La conclusion principale de l'observation de ces deux images est la proportion nettement plus élevée de matière blanche dans le cerveau humain. Chez l'humain, les faisceaux de matière blanche sont nombreux et se dispersent en périphérie (bien que peu visible sur cette image moyenne). Généralement les faisceaux périphériques varient fortement d'un individu à l'autre, au même titre que les circonvolutions cérébrales. Ceci rend le recalage de ces régions très difficile et les comparaisons voxel-par-voxel en sont rendues délicates. Chez le rat, ces problèmes ne se posent pas. Le cortex est lisse et tous les faisceaux de matière sont clairement définis, avec une variabilité inter-sujet très faible. Le problème du recalage est donc généralement plus simple chez le rat et il faut être prudent dans la translation vers l'humain des conclusions tirées chez le rat pour le traitement des données de DTI.

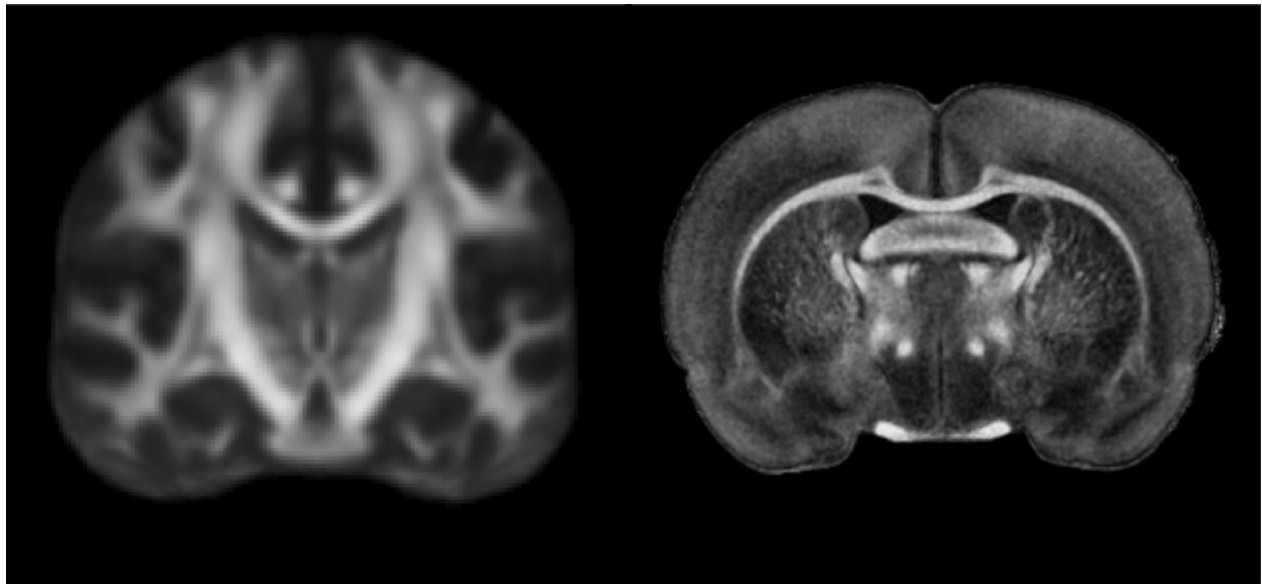


Figure A.5. : À gauche, image FA standard (FMRIB38\_FA) de l'humain. À droite, image FA de l'atlas Calabrese et al. (2013). Les échelles des deux images ont été ajustées afin de permettre une meilleure comparaison.

## REFERENCES

- Calabrese, E., Badea, A., Watson, C., Johnson, G.A., 2013. A quantitative magnetic resonance histology atlas of postnatal rat brain development with regional estimates of growth and variability. *Neuroimage* 71, 196-206.
- Papp, E.A., Leergaard, T.B., Calabrese, E., Johnson, G.A., Bjaalie, J.G., 2014. Waxholm Space atlas of the Sprague Dawley rat brain. *Neuroimage* 97, 374-386.
- Paxinos, G. W. C.(2005). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Burlington MA Elsevier Inc.
- [www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org). Le 10 novembre 2016.



## ANNEXE B - DESCRIPTION DES MÉTABOLITES QUANTIFIABLES EN SPECTROSCOPIE PAR RÉSONANCE MAGNÉTIQUE

Cette annexe présente et décrit brièvement les différents métabolites quantifiés dans nos données de spectroscopie. L'annexe permet d'établir quelques connaissances sur les métabolites, leur rôle et interactions. Généralement, les fonctions exactes ne sont pas complètement établies et chaque métabolite intervient dans une grande variété de processus de manière plus ou moins importante. Ici, les métabolites sont présentés selon la classification de Duarte et al. (2012) et leurs rôles majeurs sont décrits. Les métabolites co-dépendents sont présentés ensemble. La figure 2.21 est reprise ci-dessous à des fins de clarté. Identiquement à l'annexe A, les références sont réunies en fin d'annexe.

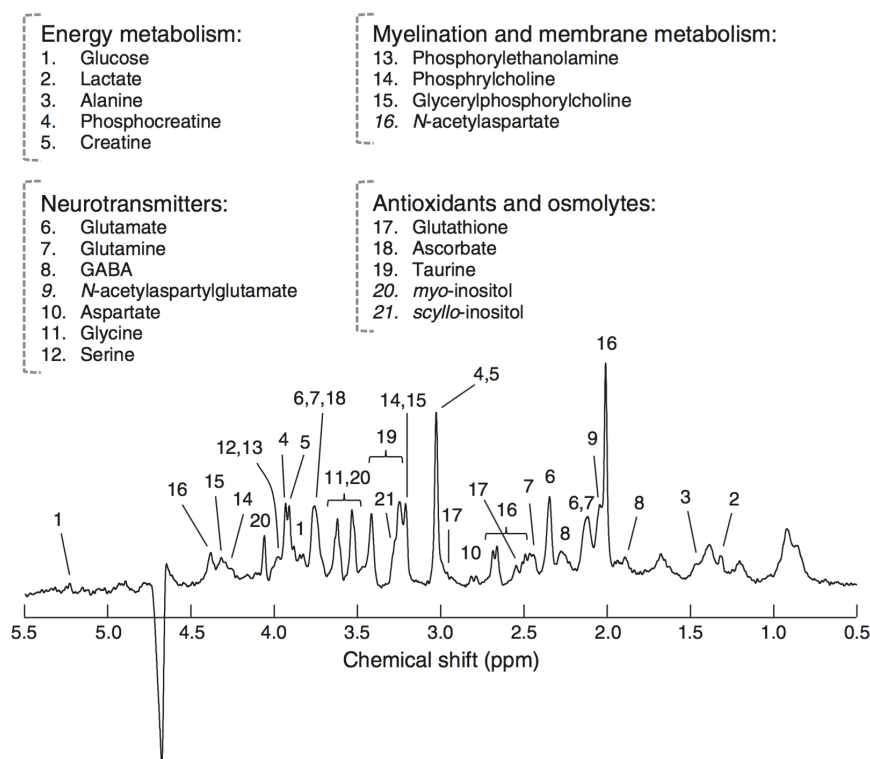


Figure B.1. : Un spectre acquis dans l'hippocampe de rat à 14.1 T avec la séquence SPECIAL. Les différents composants mesurables et leur rôle sont indiqués. Tiré de Duarte et al., 2012.

## **Métabolisme énergétique**

### *Alanine (Ala)*

L'alanine est un acide aminé présent dans le système nerveux central que l'on retrouve impliqué dans les voies métaboliques de la glycolyse et du cycle de l'acide tricarboxylique. Il est également impliqué dans la synthèse protéique.

### *Créatine (Cr) et Phosphocréatine (PCr)*

Les concentrations de créatine et de phosphocréatine sont intimement liées par un système orchestré par la créatine kinase. La phosphocréatine est clivée par la créatine kinase en créatine avec production d'ATP. Ce système reflète le statut énergétique du tissu et la concentration de créatine est un marqueur putatif du métabolisme énergétique. De plus, le taux de réaction est un bon indicateur de l'activité cérébrale. La créatine totale (Cr + PCr) est un marqueur putatif de la densité neuronale et est plus concentrée dans la matière grise que la matière blanche. Cr et PCr forment également un mécanisme de transport de l'énergie du site de production (mitochondrie) au lieu de consommation (synapse). Ils présentent deux pics de résonance à 3.03 et 3.9 ppm. La créatine est aussi l'un des osmorégulateurs principaux avec la taurine et l'inositol.

### *Glucose (Glc)*

Le glucose est un substrat énergétique important et un précurseur pour d'autres composés (Glycine par exemple). Les pics de résonance du glucose sont répartis entre 3.2 et 3.88 ppm. Notons que le cerveau en développement (période foetale) du rongeur préfère d'autres substrats énergétiques tel que le lactate.

### *Lactate (Lac)*

Le lactate est le produit final du cycle de glycolyse anaérobique. Ce substrat énergétique est produit et libéré par les astrocytes principalement durant l'activité synaptique et durant la ré-oxygénation après une hypoxie (suite à un AVC, traumatisme, tumeur, ...). En général, les lésions qui affectent la fonction mitochondriale sont suivies d'une augmentation de lactate. Il présente un pic de résonance à 1.31 ppm et chevauche fortement le signal des lipides et macromolécules, ce qui peut rendre son estimation difficile.

## Neurotransmetteurs

### *Aspartate (Asp)*

L'aspartate est l'acide aminé exciteur le plus abondant avec le glutamate. En plus de son rôle de neurotransmetteur, il joue un rôle dans la production d'énergie via le complexe de transport malate-aspartate. Chez le rat, sa concentration augmente avec l'âge.

### *Acide $\gamma$ -aminobutyrique (GABA)*

GABA est le neurotransmetteur inhibiteur principal du système nerveux central. Il est produit à partir du glutamate par décarboxylation. GABA a plusieurs pics de résonance autour de 1.89 ppm, 2.28 ppm et 3.01 ppm.

### *Glutamate (Glu) et Glutamine (Gln)*

Le glutamate est un acide aminé exciteur très abondant dans le système nerveux central. C'est le neurotransmetteur dominant. Il augmente avec l'âge et sa forte augmentation tôt dans le développement se fait en parallèle à la maturation des synapses glutamatergiques. Il est impliqué dans la synthèse de plusieurs composés (Asp, NAA, NAAG, GABA et GSH). Une trop grande concentration de glutamate a des effets toxiques (excitotoxicité). Il présente des pics de résonance à 3.74, 2.35 et 2.04 ppm.

Le glutamate forme un cycle avec la glutamine. La glutamine est synthétisée à partir du glutamate dans les astrocytes (unique site de production) avec consommation d'ATP. La glutamine est ensuite convertie en glutamate dans les neurones pré-synaptiques. Une mesure du ratio Gln/Glu peut donner une bonne estimation de la fonction neuronale.

La glutamine est un composé non-neuroactif, principalement présent dans la glie, et est une forme de stockage du glutamate. Sa concentration augmente en début de vie parallèlement au développement du système glial.

### *N-Acetylaspartylglutamate (NAAG)*

NAAG est un peptide synthétisé à partir du NAA et exprimé dans les terminaisons neuronales et en moindre quantité dans les cellules gliales. Il peut à son tour être transformé en glucose par la NAAG peptidase des astrocytes. NAAG peut aussi réguler négativement la libération de glutamate.

### *Glycine (Glyc)*

La glycine est un simple acide aminé ayant un rôle de neurotransmetteur inhibiteur et d'antioxydant. Il est synthétisé à partir du glucose et peut aussi être converti en créatine. La glycine peut aussi avoir un rôle excitateur par co-agonisme sur les récepteurs NMDA entraînant la libération de glutamate.

### **Myélination et métabolisme de la membrane**

#### *Composés choliniques : Phosphocholine (PCh) et Glycérophosphocholine (GPC)*

Les composés choliniques ont des pics de résonance qui se chevauchent à 3.2 ppm. Ces composés sont directement liés à la synthèse (via la production de phosphatidylcholine) et à la dégradation des phospholipides qui constituent les membranes cellulaires. Le signal mesuré en spectroscopie provient de la choline qui n'est pas incluse dans la membrane de macromolécules et une augmentation de la concentration de composés choliniques peut être corrélée à un renouvellement membranaire accéléré. Ces composés sont également les précurseurs pour la synthèse du neurotransmetteur acétylcholine. Le niveau de choline est différent dans la matière blanche et la matière grise.

#### *N-Acetylaspartate (NAA)*

Le NAA est une molécule spécifique au système nerveux central et presque exclusivement localisée dans les neurones. NAA est considéré comme un marqueur de la fonction et de la densité neuronale. Il joue un rôle dans la myélination et la synthèse lipidique et une démyélination axonale est associée avec une réduction de NAA. Le NAA est synthétisé dans le neurone à partir d'aspartate et d'acétyl-CoA mitochondrial, son hydrolyse produit de l'aspartate et de l'acétate. Sa concentration a tendance à diminuer dans les neuropathologies et corrèle avec le niveau de dégénération. Le pic de résonance principal du NAA se situe vers 2.01 ppm. Il joue également un rôle osmorégulateur étant la molécule la plus abondante dans le cerveau mature.

#### *Phosphorylethanolamine (PE)*

PE est un précurseur de la phosphatidylethanolamine qui est un phospholipide majeur dans le cerveau. Il diminue durant la croissance en parallèle à la progression de la myélination et à la prolifération cellulaire. Sa résonance se situe à 3.98 ppm et 3.22 ppm où il chevauche le signal de

PCh.

### **Antioxydants et osmolytes**

#### *Glutathione (GSH)*

GSH est un tripeptide composé de glycine, cystéine et glutamate. C'est un anti-oxydant primordial qui permet de maintenir la structure des globules rouges et l'état ferreux de l'hémoglobine. Il protège des dérivés réactifs de l'oxygène et de l'apoptose et peut être considéré comme un biomarqueur du statut oxydatif. Il peut également aider à combattre l'excitotoxicité provoquée par un excès de glutamate. GSH est principalement retrouvé dans la glie mais on en retrouve aussi dans les neurones. Le GSH a divers pics de résonance entre autres à 2.15, 2.55, 2.93 et 3.77 ppm.

#### *myo-Inositol (Ins)*

Le myo-inositol est la forme isomérique de l'inositol la plus abondante. C'est l'un des osmolytes principaux et il joue un rôle important dans la croissance cellulaire. C'est aussi un précurseur pour la synthèse de phospholipides contenant de l'inositol et est essentiel pour la prolifération cellulaire. Le myo-inositol a aussi été proposé comme marqueur glial et est une forme de réserve de glucose.

#### *Taurine (Tau)*

La taurine est un acide aminé dont le rôle principal chez le rongeur est le contrôle de l'osmolarité mais il peut également agir en tant que neuro-inhibiteur. C'est l'un des métabolites les plus présents dans le cerveau et particulièrement lors des premières semaines du développement où il accompagne la synaptogénèse corticale. Il présente des pics de résonance autour de 3.25 et 3.42 ppm.

### **Lipides**

Les lipides libres sont détectables en  $^1\text{H}$  NMR et se manifestent par des pics de résonance vers 0.9 et 1.3 ppm. Ces pics correspondent respectivement aux groupes méthylène ( $-\text{CH}_3$ ) et méthyle ( $-\text{CH}_2$ ) des chaînes mobiles des acides gras. Les lipides ont deux fonctions principales : ils constituent une réserve chimique d'énergie et sont les constituants structurels des parois

membranaires. La concentration en lipides libres augmente lors de l'apoptose mais pas de la nécrose. Cependant, une augmentation de lipides ne témoigne pas nécessairement d'une apoptose.

## REFERENCES

- Ernst, T., Kreis, R., Ross, B., 1993. Absolute quantitation of water and metabolites in the human brain. I. Compartments and water. *Journal of magnetic resonance, Series B* 102, 1-8.
- Govindaraju, V., Young, K., Maudsley, A.A., 2000. Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites. *NMR Biomed* 13, 129-153.
- Lust, W.D., Pundik, S., Zechel, J., Zhou, Y., Buczek, M., Selman, W.R., 2003. Changing metabolic and energy profiles in fetal, neonatal, and adult rat brain. *Metab Brain Dis* 18, 195-206.
- Musacchio, T., Toniutti, M., Kautz, R., Torchilin, V.P., 2009. <sup>1</sup>H NMR detection of mobile lipids as a marker for apoptosis: the case of anticancer drug-loaded liposomes and polymeric micelles. *Mol Pharm* 6, 1876-1882.
- Soares, D.P., Law, M., 2009. Magnetic resonance spectroscopy of the brain: review of metabolites and clinical applications. *Clin Radiol* 64, 12-21.
- Tkac, I., Rao, R., Georgieff, M.K., Gruetter, R., 2003. Developmental and regional changes in the neurochemical profile of the rat brain determined by in vivo <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. *Magn Reson Med* 50, 24-32.
- Zhu, H., Barker, P.B., 2011. MR spectroscopy and spectroscopic imaging of the brain. *Magnetic Resonance Neuroimaging: Methods and Protocols*, 203-226.

## **ANNEXE C - OUTILS ET LOGICIELS POUR L'IMAGERIE DE DIFFUSION**

Il existe une grande variété d'outils pour le traitement d'images et l'analyse des images de diffusion. Souvent ceux-ci sont développés au sein d'un même laboratoire et sont rendus disponibles à la communauté. De ce fait, beaucoup de logiciels proposent des outils similaires ou identiques, plusieurs proposant une implémentation d'un même algorithme. Généralement, les analyses requièrent une combinaison de ces différents outils. Certaines fonctionnalités spécifiques ne sont pas reprises dans le tableau. Certains logiciels sont spécifiques à une tâche (tractographie, par exemple) mais proposent d'autres options afin d'être plus complets (visualisation, etc.). Le lecteur intéressé est invité à visiter les sites web, repris au tableau C.2, pour plus de détails. Notons que DTI-Studio n'est pas repris dans le tableau car celui-ci ne semble plus disponible.

Tableau C. 1. : Liste des boîtes à outils et logiciels disponibles et leurs fonctionnalités pour l'analyse de données de diffusion. Les logiciels utilisés durant ce projet sont mis en gras.

Logiciel	Fonctionnalités							Distribution			
	Traitement	Estimation du tenseur	Recalage	Segmentation	Tractographie	Analyse ROI	Visualisation	Open-source	Multi-plateformes	CLU	GUI
<b>3D Slicer</b>	V	V		V	V	V	V	V	V		V
<i>AFNI</i>	V	V						V	Unix	V	
<i>ANTs</i>	V		V	V				V	V	V	
<i>BioImage Suite</i>	V	V	V	V	V	V	V		V		V
<i>BrainVoyager QX</i>		V					V	\$\$	V		V
<i>Camino</i>		V			V			V	Unix	V	
<i>Dipy</i>	V	V	V	V	V		V	V	V	V	
<i>DoDTI</i>	V	V			V						V
<b>DSI Studio</b>	V	V			V		V		V		V
<i>DTI-Query</i>					V					V	
<b>DTI-TK</b>	V		V		V		V		V	V	
<i>ExploreDTI</i>	V	V			V		V		V		V
<i>Freesurfer</i>	V	V	V		V		V	V	Unix	V	
<b>FSL</b>	V	V	V	V			V		V	V	
<b>ImageJ et plugins</b>	V	V	V	V		V	V	V	V		V
<b>ITK-SNAP</b>				V		V	V		V		V
<i>JIST</i>	V	V							V		V
<b>MedINRIA</b>	V		V	V	V	V	V		V		V



<i>MrDiffusion</i>		V			V	V		V		V
<i>MRtrix</i>					V			V	V	V
<i>SATURN</i>		V			V		V		V	V
<i>SPM and toolboxes</i>	V	V	V	V		V		V	V	V
<i>TrackVis</i>		V			V	V		V		V
<i>TORTOISE</i>	V	V				V		V	V	

Tableau C. 2. : Liens des logiciels présentés au tableau C.1.

Logiciel	URL	Logiciel	URL	Logiciel	URL
<i>3D Slicer</i>	www.slicer.org	<i>DSI Studio</i>	dsi-studio.labsolver.org	<i>JIST</i>	www.nitrc.org/projects/jist
<i>AFNI</i>	afni.nimh.nih.gov/afni	<i>DTI-Query</i>	graphics.stanford.edu/projects/dti/software	<i>MedINRIA</i>	www.sop.inria.fr/asclepios/software/MedINRIA
<i>ANTs</i>	stnava.github.io/ANTs	<i>DTI-TK</i>	dti-tk.sourceforge.net/pmwiki/pmwiki.php	<i>MrDiffusion</i>	white.stanford.edu/mrdiff
<i>BioImage Suite</i>	www.bioimagesuite.org	<i>ExploreDTI</i>	www.exploredti.com	<i>MRtrix</i>	www.nitrc.org/projects/mrtrix
<i>BrainVoyager QX</i>	www.brainvoyager.com	<i>Freesurfer</i>	surfer.nmr.mgh.harvard.edu/	<i>SATURN</i>	www.lpi.tel.uva.es/saturn
<i>Camino</i>	camino.cs.ucl.ac.uk	<i>FSL</i>	www.fmrib.ox.ac.uk/fsl	<i>SPM and toolboxes</i>	www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/ext
<i>Dipy</i>	dipy.org	<i>ImageJ et plugins</i>	imagej.nih.gov/ij	<i>TrackVis</i>	trackvis.org
<i>DoDTI</i>	neuroimage.yonsei.ac.kr/dotdti	<i>ITK-SNAP</i>	www.itksnap.org/pmwiki/pmwiki.php	<i>TORTOISE</i>	science.nichd.nih.gov/confluence/display/nihpd/TORTOISE

## ANNEXE D - PROTOCOLE D'ACQUISITION DES DONNÉES *IN VIVO*

Toutes les acquisitions ont été conduites sur un scanner animal 7T avec un aimant horizontal de 30 cm. Les données ont été acquises à l'aide d'une antenne de surface en quadrature de phase en mode émettrice-réceptrice. Les images pondérées par la diffusion ont été acquises avec une résolution dans le plan de  $117 \times 234 \mu\text{m}^2$  et une épaisseur de coupe de  $600 \mu\text{m}$ . L'acquisition a été réalisée avec une séquence spin-écho ( $\text{TR} = 2.2 \text{ s}$ ;  $\text{TE} = 35 \text{ ms}$ ) et la pondération s'est faite via l'application de gradients ( $b\text{-value} = 700 \text{ s/mm}^2$ ;  $\partial = 7 \text{ ms}$ ;  $\Delta = 21 \text{ ms}$ ) selon 12 directions (2 x 6 directions symétriques). Des images anatomiques ont aussi été acquises pour permettre le placement des volumes d'intérêt en spectroscopie. Une séquence fast spin écho ( $\text{TR} = 3 \text{ s}$ ; longueur du train d'échos = 8; Temps d'écho effectif =  $78 \text{ ms}$ ) a permis d'acquérir des images avec une résolution dans le plan de  $58 \times 117 \mu\text{m}^2$  et une épaisseur de coupe de  $600 \mu\text{m}$ .

Les expériences de spectroscopie furent conduites dans l'hippocampe et le corps calleux (figure D.1) avec une séquence SPECIAL et un temps d'écho très court ( $\text{TE} = 2.7 \text{ ms}$ ;  $\text{TR} = 4 \text{ s}$ ) combinée à des impulsions de suppression du signal de l'eau et de saturation du signal externe au VOI. L'homogénéité du champ magnétique a été ajustée manuellement et automatiquement via la procédure FASTMAP (Gruetter, 1993). Les dimensions de la VOI placée sur l'hippocampe ipsilatéral sont  $1.5 \times 3 \times 2 \text{ mm}^3$  et celles de la VOI placée sur le corps calleux sont de  $1 \times 4 \times 4 \text{ mm}^3$ . Les spectres ont été acquis avec une bande passante de 5kHz, 4096 points et en 18 blocs de 16 pour améliorer le SNR. Un spectre additionnel sans suppression du signal de l'eau a été acquis en tant que référence et pour permettre la correction des courants de Foucault.

Toutes les acquisitions ont été conduites sous anesthésie à l'isoflurane.

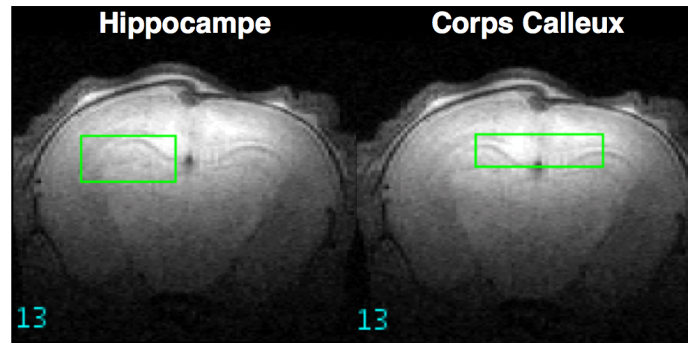


Figure D.1. : Emplacement des ROI des expériences de spectroscopie.

#### *Améliorations du protocole d'acquisition in vivo*

Afin de permettre une meilleure exploitation des données DTI *in vivo*, des efforts ont été consacrés à améliorer l'acquisition. Pour permettre d'obtenir un signal plus homogène, une antenne de volume (de type *Alderman*) pour l'excitation a été conjuguée à l'antenne de surface en quadrature pour la réception. La figure D.2 présente le résultat d'une acquisition avec un tel montage sur un raton à P10. Bien que l'animal soit plus grand qu'à P4, on peut noter la forte augmentation de SNR pour les régions inférieures.

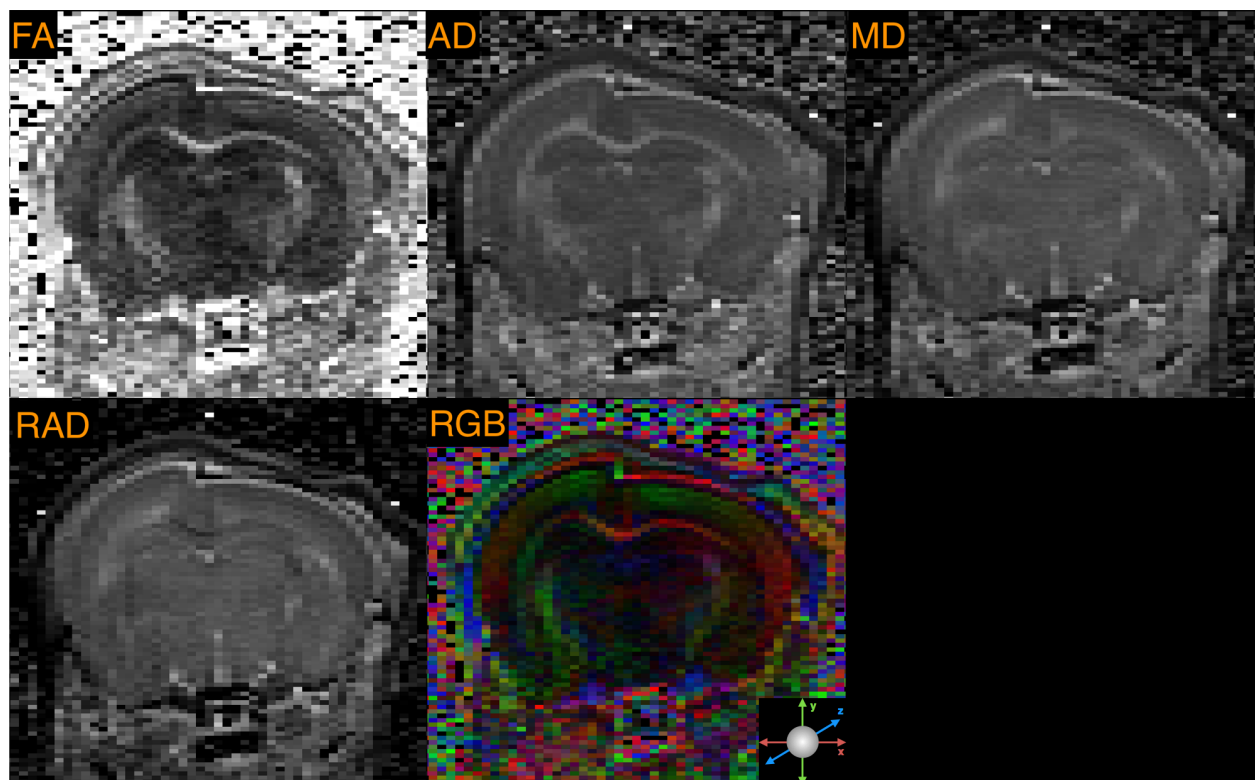


Figure D.2 : Acquisition de diffusion préliminaire chez un raton à P10 avec une antenne de surface en réception et une antenne de volume en émission.

**ANNEXE E - *CONTROL FILE* DE LCMODEL POUR DONNÉES P4**

\$LCMODL

NEACH = 999

ATTH2O = 1.0

NCOMBI = 6

CHCOMB(1) = 'Glu+Gln'

CHCOMB(2) = 'Cr+PCr'

CHCOMB(3) = 'Lip09+MM09'

CHCOMB(4) = 'Lip20+MM20'

CHCOMB(5) = 'NAA+NAAG'

CHCOMB(6) = 'PCh+GPC'

NOMIT = 5

CHOMIT(1) = '-CrCH2'

CHOMIT(2) = 'Gua'

CHOMIT(3) = 'Ser'

CHOMIT(4) = 'Scyllo'

CHOMIT(5) = 'Lip13b'

NUSE1 = 6

CHUSE1(1) = 'Tau'

CHUSE1(2) = 'Glu'

CHUSE1(3) = 'Cr'

CHUSE1(4) = 'PCr'

CHUSE1(5) = 'MM09'

CHUSE1(6) = 'MM17'

NSIMUL = 14

CONREL = 1.00

DELTAT = 2.0e-04

DKNTMN = 0.25

DOECC = T

DOWS = T

DOREFS = T

FWHMBA = 0.0050

HZPPPM = 299.458

LCOORD = 9

NAMREL = 'Cr+PCr'

NCALIB = 0

NUNFIL = 4096

PGNORM = 'US'

PPMEND = 0.2

PPMST = 4.4

SPTYPE = 'tumor'

IAVERG = 1

```
RFWHM = 1.8
VITRO = F
WCONC = 48888
SHIFMN = -0.2,-0.1
SHIFMX = 0.3,0.3
KEY = 101697430
OWNER = 'Ste-Justine'
FILBAS = '/home/local/LIOM/lcmodel/.lcmodel/basis-sets/gamma_te0_300mhz_546g.basis'
DEGPPM = 0
DEGZER = 0
SDDEGP = 999
SDDEGZ = 999
TITLE = "
FILPS = "
FILCOO = "
FILRAW = "
FILH2O = "
$END
```